



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**ANT BROMÜR BİLEŞİĞİNİN İNDİKATÖR
OLARAK KULLANIMININ İNCELENMESİ
VE pH KAĞIDI ÜRETİMİ**

Zeynep ŞAHİNBAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Doç. Dr. Ahmet YAŞAR

Trabzon - 2015



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**ANT BROMÜR BİLEŞİĞİNİN İNDİKATÖR
OLARAK KULLANIMININ İNCELENMESİ
VE pH KAĞIDI ÜRETİMİ**

Zeynep ŞAHİNBAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Doç. Dr. Ahmet YAŞAR

Trabzon - 2015

ONAY

Bu tez Yüksek Lisans Tezi Standartlarına Uygun Bulunmuştur.

Doç. Dr. Ahmet YAŞAR

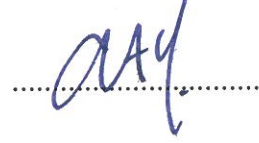
Analitik Kimya Anabilim Dalı Başkanı



Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Zeynep ŞAHİNBAŞ'ın hazırladığı "ANT Bromür Bileşiğinin İndikatör Olarak Kullanımının İncelenmesi ve pH Kağıdı Üretimi" başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Doç. Dr. Ahmet YAŞAR



Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Esat GÜMÜŞKAYA

Doç. Dr. Zekeriya BIYIKLIOĞLU

Doç. Dr. Ahmet YAŞAR



Tarih: 11/06/2015

Bu tez KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/....../.... tarih ve ... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ali Osman KILIÇ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasında ANT Bromür bileşiminin sentezini ve indikatör olarak kullanımının incelenmesini KTÜ Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirdiğimi, antioksidan aktivite tayinini aynı fakültenin Eczacılıkta Biyokimya Anabilim Dalı Eczacılıkta Biyokimya Araştırma Laboratuvarında yaptırdığımı, antimikrobiyal aktivite çalışmalarımı KTÜ Biyoloji Bölümünde yaptırdığımı, voltametrik ölçümleri KTÜ Kimya Bölümünde yaptırdığımı ve kağıt üretimini Orman Fakültesi Orman Endüstri Mühendisliği Kağıt Pilot Tesisinde yaptırdığımı, bu tez çalışmasını KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazdığımı, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

08.05.2015

Zeynep ŞAHİNBAŞ

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması TÜBİTAK 113R010 nolu proje desteğiyle K.T.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince bilgi, deneyim ve imkanlarını benimle paylaştığı için danışmanım Doç. Dr. Ahmet YAŞAR'a; voltametrik analizleri yapan ve bu esnada benimle bilgilerini paylaşarak tezimi hazırlamamda yol gösteren Doç. Dr. Zekeriya BIYIKLIOĞLU'na; kağıt üretiminde yardımlarını ve bilgilerini esirgemeyen Prof. Dr. Esat GÜMÜŞKAYA'ya ve Arş. Gör. Emir ERİŞİR'e; antioksidan aktivite çalışmalarımı yapan Yrd. Doç. Dr. Arzu ÖZEL'e; antimikrobiyal aktivite çalışmalarımı yapan Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ'a ve Doç. Dr. İsmail DEMİR'e çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca her zaman yanımda olan ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Nurten KAYA'ya, Esra RONA'ya ve Yüksek Kimyager Ozan Emre EYUPOĞLU'na çok teşekkür ederim. Ayrıca her zaman güleryüzlü ve yardımsever olan Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına çok teşekkür ederim.

Çocukluğumdan beri yanımda olup hayatımın her anında bana destek olan, beni neşelendiren, fikirlerine değer verdiğim, değerli dostum Biyolog Fatmanur SİYAH'a; lisans yıllarımda ve sonrasında farklı şehirde olsalarda her zaman varlığını yanımda hissettiğim canım arkadaşlarım İnşaat Mühendisi Selen ALBAYRAK'a ve Kimyager Duygu ÖZTÜRK'e teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, eğitim hayatım boyunca bana her zaman destek olan, en çekilmez olduğum stresli dönemlerimde bile bana sabırlı davranan, bana olan inancını kaybetmeyen ve bana her zaman güvenen canım annem Fatma ŞAHİNBAŞ'a ve canım babam İslam ŞAHİNBAŞ'a; daima desteklerini gördüğüm ve tezimi düzenlememde yardımcı olan değerli kardeşlerim Şeyma ŞAHİNBAŞ ve Şevki ŞAHİNBAŞ'a sonsuz minnetle teşekkürlerimi sunarım.

Zeynep ŞAHİNBAŞ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İç Kapak Sayfası	
ONAY	
BEYAN	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xii
RESİMLER DİZİNİ	xiii
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	xv
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİ	5
4.1. Boya ve Boyar Maddeler	5
4.2. Boyar Madde Tarihçesi	5
4.2.1. Mor Renk	8
4.2.2. Kırmızı Renk	9
4.2.3. Mavi Renk	10
4.2.4. Sarı Renk	11
4.3. Boyar Maddeler	11
4.3.1. Boyar Maddelerin Sınıflandırılması	13
4.3.1.1. Çözünürlüklerine Göre Boyar Maddeler	14
4.3.1.2. Boyama Özelliklerine Göre Boyar Maddeler	15
4.3.1.3. Kimyasal Yapılarına Göre Boyar Maddeler	18
4.4. Asitler ve Bazlar	21
4.4.1. Asitler ve Bazların Genel Özellikleri	23
4.4.1.1. Asitlerin Genel Özellikleri	23
4.4.1.2. Bazların Genel Özellikleri	23
4.5. pH Kavramı	23

4.6.	İndikatörler	23
4.6.1.	İndikatör Çeşitleri	24
4.6.1.1.	Asit-Baz İndikatörleri	24
4.6.1.2.	Redoks İndikatörleri	25
4.6.1.3.	Karışık İndikatörler	25
4.6.1.4.	Çöktürme İndikatörleri	26
4.7.	Turnusol Kağıdı	26
4.8.	Flavonoidler	27
4.9.	Antosiyaninler	29
4.9.1.	Antosiyaninlerin Yapısı	31
4.9.2.	Antosiyaninlerin Antioksidan Aktiviteleri	32
4.10.	Antosiyaninlerin Biyosentezi	34
4.11.	Antosiyaninlerin Kimyasal Sentezi	36
4.12.	Elektrokimyasal Yöntemlerin Sınıflandırılması	38
4.12.1.	Voltametri	39
4.12.2.	Voltametrik Yöntemler	43
4.12.2.1	Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV)	43
4.12.2.2.	Dönüşümlü Voltametri (DV)	44
4.12.2.3.	Kare Dalga Voltametri (KDV)	45
4.13.	Mikrodalga	46
4.13.1.	Mikrodalga Kimyasının Tarihçesi	47
4.13.2.	Mikrodalga Teorisi	48
4.13.3.	Mikrodalga Reaksiyonlarında Sıcaklık ve Zaman	50
4.13.4.	Mikrodalga Destekli Organik Sentezlerin Klasik Yöntemden Üstünlükleri	50
4.14.	Spektroskopi	51
4.15.	Kromatografi	53
4.16.	Antimikrobiyal Maddelerin Genel Özellikleri	53
4.17.	Antioksidan Aktivite	54
5.	GEREÇ ve YÖNTEM	56
5.1.	Kullanılan Maddeler	56

5.2.	Kullanılan Cihazlar	56
5.3.	ANT Bromür Bileşiğinin Sentezi	57
5.4.	ANT Bromür Bileşiğinin İndikatör Özelliğinin İncelenmesi	57
5.5.	Adi Süzgeç Kağıdına Boyar Madde Emdirilmesi İşlemi	58
5.6.	ANT Bromür Bileşiği Kullanılarak pH Kağıdı Üretimi	58
5.7.	Elektrokimyasal Ölçümler	58
5.7.1.	Elektrokimyasal Ölçüm Parametreleri	58
5.7.2.	Elektrokimyasal Ölçümlerde Ön İşlemler	59
5.7.3.	ANT Bromür Bileşiğinin Stok Çözeltilerinin Hazırlanması	59
5.7.4.	Dönüşümlü Voltametri (DV) ve Kare Dalga Voltametri (KDV) Ölçümleri	59
5.8.	Antioksidatif Aktivite Çalışmaları	60
5.8.1.	Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi	60
5.8.2.	DPPH Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi	60
5.9.	Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları	61
5.9.1.	Disk Difüzyon Yöntemi ile İn-vitro Antimikrobiyal Belirlenmesi	61
5.9.2.	Mikro Seyreltme Testi	62
6.	BULGULAR	63
6.1.	ANT Bromür Bileşiğinin Sentezi	63
6.2.	ANT Bromür Bileşiğinin Boyar Madde Özelliği	64
6.3.	ANT Bromür Bileşiğinin İndikatör Olarak Kullanımı	64
6.4.	ANT Bromür Bileşiğinin pH Kağıdı Üretiminde Kullanımı	70
6.5.	Voltametrik Ölçüm Sonuçları	71
6.6.	Antioksidatif Aktivite Sonuçları	72
6.6.1.	Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi	72
6.6.2.	DPPH Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi	72
6.7.	Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	73
7.	TARTIŞMA ve SONUÇ	74
7.1.	ANT Bromür Bileşiğinin Sentezi	74
7.2.	ANT Bromür Bileşiğinin Boyar Madde Özelliği	74
7.3.	ANT Bromür Bileşiğinin İndikatör Olarak Kullanımı	75

7.4.	ANT Bromür Bileşiminin pH Kağıdı Üretiminde Kullanımı	75
7.5.	Voltametik Ölçüm Sonuçları	75
7.6.	Antioksidatif Aktivite Sonuçları	78
7.6.1.	Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi	78
7.6.2.	DPPH Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi	78
7.7.	Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	79
8.	SONUÇLAR	81
9.	ÖNERİLER	85
10.	EKLER	86
11.	KAYNAKLAR	90
12.	ÖZGEÇMİŞ	100

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekiller	Sayfa
Şekil 1. Sur moru boyar maddesi	9
Şekil 2. Alizarin boyar maddesi	10
Şekil 3. İndigo boyar maddesi	11
Şekil 4. Nitro veya nitroso grupları ile elektrodonor grup birbirlerine göre orto pozisyon	19
Şekil 5. Nitro boyar maddesi ve nitroso boyar maddesi	19
Şekil 6. Arilmetin boyar maddesi	20
Şekil 7. Aza [18] annulen boyar maddesi	20
Şekil 8. Karbonil boyar maddesi	21
Şekil 9. Lewis asit ve bazlarının elektron nokta yapısı ile gösterimi	22
Şekil 10. Numara sistemi içeren basit bir flavonoid yapısı	28
Şekil 11. Antosiyanin (flavilyum katyonu)	32
Şekil 12. Antosiyanin radikallerinin rezonans yapıları	33
Şekil 13. Antosiyaninlerin biyosentezi	35
Şekil 14. Antosiyaninlerin numaralandırılma sistemi	36
Şekil 15. Elektrokimyasal yöntemlerin sınıflandırılması	39
Şekil 16. Üç elektrot sistemi kullanılan elektrokimyasal hücre örneği	41
Şekil 17. Voltametrde kullanılan potansiyel uyarma sinyalleri	43
Şekil 18. Tersinir, yarı tersinir ve tersinmez sistemler için örnek DV voltamogramları	45
Şekil 19. Örnek bir kare dalga voltamogramı	46
Şekil 20. Elektromanyetik spektrumda yer alan bazı ışımların madde üzerindeki etkileri	47
Şekil 21. a) Antosiyanin bileşiğinin DCM/TBAP destek elektrolit varlığında 100 mVs^{-1} tarama hızında katodik ve anodik bölgede alınan dönüşümlü voltamogramı b) Anodik ve katodik bölgede alınan kare dalga voltamogramı	76

- Şekil 22.** Antosiyanin bileşiğinin DCM/TBAP destek elektrolit varlığında 50-1000 mVs⁻¹ tarama hızlarında katodik ve anodik bölgede alınan DV voltamogramı 77
- Şekil 23.** ANT'nin SOD aktivitesi için konsantrasyon-%SC grafiği 78
- Şekil 24.** ANT'nin DPPH aktivitesi için konsantrasyon-%SC grafiği 79

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablolar	Sayfa
Tablo 1. Flavonoidlerin hetero halkadaki -C3- yapısına göre sınıflandırılması	28
Tablo 2. Bazı bitkilerin antosiyanin içerikleri	30
Tablo 3. Kullanılan cihazlar ve kullanım amaçları	56
Tablo 4. MİK'te kullanılan mikroorganizmaların adı ve ATCC numaraları	61
Tablo 5. ANT Bromür bileşiğinin ¹ H ve ¹³ C spektrum verileri	74
Tablo 6. Sentezlenen antosiyanin bileşiğinin voltametrik analiz sonuçları	77
Tablo 7. ANT'nin antioksidatif etkinliği	79
Tablo 8. Test edilen bakteri türlerine karşı MİK değerleri	80

RESİMLER DİZİNİ

Resimler	Sayfa
Resim 1. Standart pH kağıtları (pH 0-7)	27
Resim 2. Standart pH kağıtları (pH 7-14)	27
Resim 3. Mikrodalga	63
Resim 4. pH'ı 6.33 iken çözeltinin rengi	64
Resim 5. 1M'lık H_2SO_4 damla damla eklendiğinde pH 2.91'de çözeltinin rengi koyu sarı	64
Resim 6. 1M'lık H_2SO_4 damla damla eklendiğinde pH 1.29'da çözeltinin rengi koyu sarı	65
Resim 7. 1 M'lık NaOH damla damla eklendiğinde rengin dönmeye başladığı an	65
Resim 8. 1 M'lık NaOH damla damla eklendiğinde pH 6.87'de çözeltinin rengi kırmızı	65
Resim 9. 1 M'lık NaOH damla damla eklendiğinde pH 7.02'de çözeltinin rengi kırmızı	66
Resim 10. 1 M'lık NaOH damla damla eklendiğinde pH 7.14'te çözeltinin rengi kırmızı	66
Resim 11. 1 M'lık NaOH damla damla eklendiğinde pH 7.92'de çözeltinin rengi turuncu	66
Resim 12. Baz ilavesine devam edildikçe çözeltinin renginin pH 11.36'dan itibaren açık sarıya döndüğü an	67
Resim 13. pH 11.94 iken çözeltinin rengi açık sarı	67
Resim 14. Adi süzgeç kağıtlarının pH kağıdı olarak hazırlanması	68
Resim 15. Hazırlanan pH kağıtlarının kurutulması	68
Resim 16. pH'ı 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.01, 8.0, 9.0, 10.0 olan 1 M'lık asit-baz çözeltileri ve boyar madde emdirilmiş adi süzgeç kağıtları (beherde asılı olanlar) ile turnusol kağıtlarındaki renk değişimleri	69
Resim 17. pH'ı 4.0, 5.0, 6.02, 7.01, 8.01, 9.01 ve 10.02 olan 3 M'lık asit-baz çözeltileri ve boyar madde emdirilmiş adi süzgeç kağıtları (beherde asılı olanlar) ile turnusol kağıtlarındaki renk değişimleri	69

Resim 18.	Üretilen pH kağıdı	70
Resim 19.	Üretilen pH kağıtlarının strip formuna dönüştürüldüğü hali	70
Resim 20.	Üretilen pH kağıtlarında asit ve baza karşı renk değişimleri	71
Resim 21.	Üç elektrotlu elektrokimyasal hücre	72

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ANT	Sentezlenen bileşiğin ticari adı
APT	Karbon türünü belirten spektrum
BHA	2(3)- <i>t</i> -Bütil-4-hidroksianisol
CFU	Colony forming unit
¹³ C-NMR	Karbon sayısını veren spektrum
CoA	Koenzim A
COSY	Proton korelasyon spektrumu
ÇE	Çalışma elektrodu
1D	Bir boyutlu
2D	İki boyutlu
D ₂ O	Dötero su
DCM	Diklorometan
DV	Dönüşümlü voltametri
DKE	Doygun kalomel elektrot
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPV	Diferansiyel puls voltametri
DPPH	2,2-difenil-1-pikril hidrazil
E. coli	Escherichia coli
FT-IR	Fourier transform-infrared spektroskopisi
¹ H-NMR	Proton nükleer manyetik rezonans spektrometresi
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
IR	İnfrared spektrometresi
ISFET	İyon seçici alan etkili transistörler
KDV	Kare dalga voltametri
LC-MS/MS	Sıvı kromatografisi-kütle/kütle spektrometresi
log	Logaritma
M+	Moleküler iyon piki
MHz	Megahertz

MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
MS	Kütle Spektroskopisi
NBT	Nitro mavisi tetrazolyum
NMR	Nükleer magnetik rezonans
o-	Orto
pH	Hidrojen konsantrasyonunun kologaritması
pK _a	Asidik iyonlaşma sabitinin negatif logaritması
ppm	Milyonda bir birim
RE	Referans elektrot
SC ₅₀	Radikali yarıya indiren numune konsantrasyonu
SHE	Standart hidrojen elektrot
SOD	Süperoksit dismutaz
TBAP	Tetrabutylamonyumperklorat
UV	Ultraviyole spektroskopisi
UV-Vis	Ultraviyole-görünür bölge spektroskopisi
YE	Yardımcı elektrot
%SC	DPPH radikallerinin süpürülme kapasitesi

Simgeler

A	Absorbans
Au	Altın
Cl ⁻	Klorür
cm	Santimetre
cm ²	Santimetrekaare
Co	Kobalt
Cr	Krom
Cu	Bakır
E	Potansiyel
E _{pa}	Anodik pik potansiyeli
E _{pc}	Katodik pik potansiyeli
F ⁻	Florür
γ	Gama
H ⁺	Hidrojen iyonu
He	Helyum
λ	Dalga boyu
I _{pa}	Anodik pik akımı
I _{pc}	Katodik pik akımı
M	Molar
mm	Milimetre
m	Metre
ml	Mililitre
ms	Milisaniye
mV	Milivolt
μ A	Mikroamper
μ g	Mikrogram
μ M	Mikromolar
μ L	Mikrolitre
n	Aktarılan elektron sayısı
Na ⁺	Sodyum iyonu

Ni	Nikel
N ₂	Azot Gazı
nm	Nanometre
OH ⁻	Hidroksil iyonu
°C	Santigrat derece
π	Pi sayısı
Pt	Platin
s	Saniye
V	Volt
%	Yüzde

Formüller

ACOH	Asetik asit
Ag/Ag ⁺	Gümüş/Gümüş iyonu
Ag/AgCl	Gümüş/Gümüş klorür
AlCl ₃	Alüminyum klorür
AlCl ₄ ⁻	Tetrakloroalüminat iyonu
CH ₃ COOH	Asetik asit
Ca(OH) ₂	Kalsiyum hidroksit
-COOH	Karboksilik asit
CO ₂	Karbondioksit
H ₂ SO ₄	Sülfürik asit
HF	Hidrojen florür
H ₂ O	Su
H ₃ O ⁺	Hidronyum iyonu
Hg/Hg ₂ Cl ₂	Kalomel elektrot
HBr	Hidrojen bromür
HCl	Hidroklorik asit
HNO ₃	Nitrik asit
KCl	Potasyum klorür
KNO ₃	Potasyum nitrat
KOH	Potasyum hidroksit
OH ⁻	Hidroksil iyonu
NaOH	Sodyum hidroksit
-NH ₂	Amin
NH ₃	Amonyak
NH ₄ ⁺	Amonyum
SO ₂	Kükürt dioksit
SO ₃	Kükürt trioksit
SO ₃ H	Sülfonik asit

1. ÖZET

ANT Bromür Bileşiğinin İndikatör Olarak Kullanımının İncelenmesi ve pH Kağıdı Üretimi

ANT Bromür bileşiği bu tez kapsamında elde edilen, literatürde olmayan, indikatör özelliği gösteren ve antosiyanin yapısında bir boyar maddedir. ANT Bromür bileşiği suda çözünen asidik bir boyar maddedir ve sentez aşamasında yeşil kimya stratejisine uygun olarak mikrodalga kullanıldı. Bu bileşiğin farklı pH aralıklarında renginin değişmesi üzerine indikatör olarak kullanımı araştırılarak pH kağıdı üretildi. ANT bromür bileşiğinin yapısı NMR (400 MHz NMR, 1D: ^1H , ^{13}C -APT; ve 2D: COSY), FT-IR, UV-Vis, LC-MS/MS teknikleri ile aydınlatıldı. Antioksidan aktivitenin belirlenmesi için SOD ve DPPH yöntemleri kullanıldı. SOD yönteminde süperoksit radikallerinin %50'sini süpüren ANT konsantrasyonu 65.78 μM olarak ölçüldü ve ANT'nin etkinliğinin SOD enziminin etkinliğinden daha az olduğu görüldü. DPPH yönteminde ANT'nin BHA'ya göre DPPH radikallerini giderme etkinliğinin daha yüksek olduğu ortaya konuldu. Askorbik asit ile kıyaslandığında ise askorbik asitin daha yüksek DPPH radikal süpürme kapasitesine sahip olduğu tespit edildi. Antimikrobiyal aktivite tayininde 11 bakteri türüne karşı iki ayrı yöntemle analiz yapıldı. Mikroorganizmalara karşı ayarlanan ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri kalitatif ve kantitatif olarak inhibisyon bölgeleri, alan çapları ve MİK değerlerinin bulunuşu ile değerlendirilerek ANT Bromür bileşiği, Kanamisin antibiyotiğiyle karşılaştırıldığında gram pozitif bakterilerde ve E. coli'de daha iyi etkinlik gösterdiği görüldü. ANT Bromür bileşiğinin elektrokimyasal özellikleri dönüşümlü voltametri ve kare dalga voltametri yöntemi kullanılarak belirlendi. ANT Bromür bileşiğinin dönüşümlü voltametri ile katodik ve anodik potansiyel taraması sırasında iki adet indirgenme ve bir adet yükseltgenme reaksiyonu verdiği belirlendi. Aynı analiz kare dalga voltametri ile gerçekleştirildiğinde yine aynı pikler elde edilerek reaksiyonların doğruluğu teyit edildi.

Anahtar Sözcükler: Antimikrobiyal Aktivite, Antioksidan Aktivite, Antosiyanin, Asit, Baz, Boyar Madde, Dönüşümlü Voltametri, Elektrokimya, İndikatör, Kare Dalga Voltametri, Mikrodalga, pH Kağıdı

2. SUMMARY

Investigation of Using ANT Bromide Compound as an Indicator and pH Paper Production

ANT Bromide compound which is a dyestuff obtained within this thesis, not in the literature, showing the indicator feature and in the structure of anthocyanin. ANT Bromide compound is an acidic dyestuff which is water-soluble and was used microwave in synthetic step according to green chemistry strategy. pH paper was produced by investigated for using as an indicator about change of the color in various pH ranges of this compound. The structures of the ANT compound were identified by NMR (400 MHz NMR, 1D: ^1H , ^{13}C -APT; and 2D: COSY), FT-IR, UV-Vis, LC-MS/MS techniques. SOD and DPPH methods were used for determination of antioxidant activity. The concentration of ANT which was swept 50% of the concentration of superoxide radicals was measured as 65.78 μM in SOD procedure and found that activity of ANT was less than SOD enzyme activity. In DPPH method, the efficiency of removal of the DPPH radicals of ANT was higher than BHA was made out. When it was compared with ascorbic acid, it was determined to have higher DPPH radical scavenging capacity than ascorbic acid. The determination of antimicrobial activity was analyzed by two different methods against 11 bacterial species. Antimicrobial activities of extracts which was set against microorganisms, inhibition zones, zone diameters as qualitative and quantitative and by evaluated with presence of MIC value, ANT Bromide compound was better activity in gram-positive and *E. coli* compared to kanamycin antibiotic. The electrochemical properties of ANT Bromide compound were determined using cyclic voltammetry and square wave voltammetry method. The compound of ANT Bromide gave two reduction and an oxidation reaction that was determined to with cyclic voltammetry during anodic and cathodic potential scan. When the same analysis is performed with square wave voltammetry, confirmed the accuracy of the reactions by same peaks were obtained.

Keywords: Antimicrobial Activity, Antioxidant Activity, Anthocyanin, Acid, Base, Cyclic Voltammetry, Dyestuff, Electrochemistry, Indicators, Microwave, pH Paper, Square Wave Voltammetry

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Günümüzde, antioksidan ve antimikrobiyal gibi çeşitli biyoaktif aktiviteler gösteren bitkisel kaynaklı doğal renklendiriciler bulunmaktadır. Özellikle bazı sentetik renklendiricilerin insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilerinin ortaya çıkmasından dolayı doğal boyar maddeler ilgi odağı haline gelmişlerdir. Gıdalarda sentetik katkı maddelerinin kullanımı üzerine çeşitli yasal düzenlemeler yapılmış ve tüketicilerin endişelerinin sonucu olarak dünyada, doğal renklendiricilere önemli bir talep artışı olmuştur. Ancak, doğal kaynaklardan elde edilen boyar maddelerin kullanımı ve saklanması zordur. Buna ek olarak ışık, pH ve nükleofilik ajanlara karşı hassas olup sentetik boyalar ile karşılaştırıldığında yerleşik gıda matrisi içinde sınırlı kararlılığa sahiptirler. Ayrıca doğal boyar maddeler, genellikle sentetik boyar maddelere oranla pahalı ve düşük renk veren maddelerdir. Boyar maddelerin geçmişten günümüze, kozmetikten gıdaya kadar birçok alanda kullanımıyla, önemli bir ilgi alanı haline gelmiştir.

Boyar maddelerin kullanıldığı bir diğer alan olarak çözeltilerin asit ve bazlığını tayin etmek için kullanılan turnusol kâğıdı örnek verilebilir. Turnusol kâğıdı kimyada kullanılan asit-baz ayıraçlarından biridir. Çözeltilerdeki asit ve bazları ayırt etmekte kullanılır. Genel anlamda turnusol, asitle temas ettiğinde kırmızı, baz ile temas ettiğinde de mavi renk verir (1). Çözeltinin pH'ına bağlı olarak renk değiştiren bileşikler indikatör olarak tanımlanır. Bu bileşikler titrasyonun bitiş noktasını belirtmek amacıyla kullanılırlar. İndikatör özellik gösteren boyar maddeler olarak metil oranj ve fenolftalein örnek olarak verilebilir (2).

Bir maddenin elektrokimyasal özelliklerini incelerken, voltametrik yöntemler tercih edilerek yüksek hassasiyette hızlı ve kesin sonuçlar almak mümkündür. Voltametrik yöntemler, çalışma alanı oldukça geniş olan ve elektrokimyasal yöntemler içinde en çok kullanılan yöntemler olarak sınıflandırılabilir.

ANT Bromür bileşiği bu tez kapsamında elde edilen ve literatürde olmayan bir boyar maddedir. Bu çalışmayla literatüre indikatör özelliği olan bir boyar madde eklenecektir. ANT Bromür bileşiği antosiyanin yapısında bir bileşik olup suda çözünen asidik bir boyar maddedir ve sentez aşamasında yeşil kimya stratejisine uygun olarak mikrodalga kullanılarak sentezlenmiştir. Mikrodalga kullanımının avantajları yanında

doğaya verilen zararları çok aza indirmesi tezin önemli katkılarından biridir. ANT Bromür bileşiğinin yapısı NMR (400 MHz NMR, 1D: ^1H , ^{13}C -APT; ve 2D: COSY), FT-IR, UV-Vis, LC-MS/MS teknikleri ile aydınlatıldı. Sentezlenen bileşik hem adi süzgeç kağıdına hem de selülozik tabakaya tatbik edilerek boyanın kağıda tutunması incelendi. ANT Bromür bileşiğinin selülozik tabakaya daha iyi tutunmasıyla, üretilen pH kağıdının turnusol kağıdı olarak kullanılabilirliği bu tez kapsamında araştırıldı.

Sentezlenen maddeyi tam anlamıyla incelemek adına bu çalışmada biyolojik aktivitelere yer verildi. Bu sebeple antioksidan ve antimikrobiyal testler yapılarak analiz sonuçları değerlendirildi. Antioksidan çalışmalarında SOD ve DPPH yöntemleri kullanıldı. SOD yönteminde süperoksit radikallerinin %50'sini süpüren ANT konsantrasyonu 65.78 μM olarak bulundu. Bu da SOD enziminin ANT bromür bileşiğine göre daha iyi aktivitesi olduğunu gösterdi. DPPH yönteminde ise ANT'nin BHA'ya göre daha düşük SC_{50} değerine sahip olduğu yani DPPH radikallerini giderme etkinliğinin daha yüksek olduğu ortaya konuldu. Askorbik asit ile kıyaslandığında ise askorbik asitin ANT'ye göre daha yüksek DPPH radikal süpürme kapasitesine sahip olduğu tespit edildi. Antimikrobiyal aktivite tayininde 11 bakteri türüne karşı iki ayrı yöntemle analiz yapıldı. Mikroorganizmalara karşı ayarlanan ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri kalitatif ve kantitatif olarak inhibisyon bölgeleri, alan çapları ve MİK değerlerinin bulunuşu ile değerlendirilerek analiz edilen ANT Bromür bileşiği, Kanamisin antibiyotiğiyle karşılaştırıldığında gram pozitif bakterilerde ve E. coli'de (gram negatif) daha iyi etkinlik gösterdiği görüldü.

ANT Bromür bileşiğinin elektrokimyasal özellikleri dönüşümlü voltametri ve kare dalga voltametri yöntemi kullanılarak belirlendi. ANT Bromür bileşiğinin dönüşümlü voltametri ile katodik ve anodik potansiyel taraması sırasında iki adet indirgenme ve bir adet yükseltgenme reaksiyonu verdiği belirlenmiştir. Aynı analiz kare dalga voltametri ile gerçekleştirildiğinde yine aynı pikler elde edilerek reaksiyonların doğruluğu teyit edildi.

4. GENEL BİLGİ

4.1. Boya ve Boyar Maddeler

"Boya" tanım olarak pigment adı verilen renkli tozlarla bir sıvı bağlayıcı içeren ve uygulandığı yüzey üzerinde bir film oluşturan karışıma verilen isimdir. Boya için farklı tanımlar yapmak mümkün olmaktadır. Başka bir ifadeyle cisimlerin yüzeylerini dış etkenlerden korumak ve güzel bir görünüm kazandırmak amacıyla kullanılan farklı renklerdeki maddelere boya denilmektedir (3). Boya tanımlamasının yanında boyar madde için de tanımlama yapılmaktadır. Ancak bu iki tanım genelde birbiriyle karıştırılmaktadır. Konuşma dilinin aksine boya ve boyar maddenin tanımları birbirinden farklıdır (4).

Boyar madde, uygulandığı yüzey üzerinde kimyasal reaksiyona neden olup yüzey tarafından kuvvetli bir şekilde emilerek cismin renk niteliğini temelden değiştiren maddeler olarak tanımlanmaktadır. Sonuç olarak cismin kendini renkli yapmak için kullanılan maddelerdir. Bir maddenin boyar madde sıfatını taşıması için net bir renge sahip olması, sabit olarak cismin üzerinde kalıp su, kimyasal madde ve değişik dalga boylarındaki ışığa karşı dayanıklı olması beklenmektedir. Literatürde adı geçen boyar maddelerin çoğu organik yapılıdır. Boyar maddeler uygulandıkları cismin yüzeyinde etkileşime girerek birbirine bağlanmaktadır. Bu tutunma işlemi kimyasal veya fizikokimyasal olarak gerçekleşmektedir (3).

Boyarlar ise bir bağlayıcı ile karışmış olmasına rağmen çözünmemiş karışımlardır. Boyanın uygulanma aşamasında yüzeye fırça veya boyama tabancaları kullanılarak yağın kurumasıyla boyanan yüzeyde kalın bir tabaka oluşmaktadır. Bu uygulama tanım olarak; boyama değil de örtme olarak sınıflandırılabilir. Boyar maddelerin aksine genel olarak boyalar anorganik yapıda olup organik olanlarına da nadiren rastlanmaktadır. Uygulandıkları yüzeyde kalın bir tabaka oluşturarak yüzeyde hiçbir değişiklik yapmadıklarından kazıyarak büyük parçalar halinde yüzeyden uzaklaştırmak mümkündür (4).

4.2. Boyar Madde Tarihçesi

Geçmişten günümüze boyar maddeler hemen hemen her alanda kullanılmış olup dünyasını renklendirmek ve güzelleştirmek isteyen insanoğlunun vazgeçilmezi haline

gelmiştir (6,7). İnsanlar bitkisel ve hayvansal boyar maddelerden yararlanıp çevresini ve kendini güzelleştirmeye çalışmıştır. Bu boyar maddelerden tyrian moru, indigo ve alizarin isimli boyar maddelerin ekonomik ve tarihi açıdan oldukça önemli yeri vardır (3,5).

Taş devri zamanlarına doğru yolculuğa çıktığımızda bile boyar maddenin insanlar için önemi görülmektedir. İsa'dan yüzlerce yıl öncesine ait Dordogne (Fransa) ve Altamiria (İspanya)'da bulunan mağara duvarlarındaki resimler ve kullanılan eşyalar, boyar maddelerin varlığının kanıtı olarak gösterilmektedir. Bu yönden düşündüğümüzde, aslında boyar maddelerin varlığının ne kadar eskiye dayandığını görmek mümkündür. (4,6).

Tarih öncesinde kullanılan ilk boyar maddelerin; süslemede ve çanak çömlek yapımında yararlanılan killi toprak, metal oksit karışımı ve bitki öz suları olduğu düşünülmektedir. Buradan da anlaşılacağı gibi insanlar ihtiyaçları doğrultusunda boyar maddelerin kullanımına yön vermiştir. Bu şekilde hem ihtiyaçlarını karşılamış hem de göze hoş gelecek şekilde tasarım yapmışlardır (7). Boya ve boyar maddeleri kullanırken su ile çözülerek boyanacak yüzeye uygulandığı düşünülmektedir (6). Bunun yanında eski Mısırlılarda boyalara sağlamlık ve parlaklık vermek amacıyla zıncı kullanılmıştır. Ayrıca bu tarz boyaların Mısır mumyalarında da örneklerine rastlamak mümkündür. Boyaların kullanım sıklığı nedeniyle insanlar boyaların nemden ve havayla etkileşimini engellemek için üzerlerini mum tabakasıyla kaplayarak muhafaza edilmesini sağlamışlardır. Böylece boya ve boyar madde endüstrisi gelişirken bunun yanında boya ve boyar maddenin uygulandığı yüzeydeki kalitesi de arttırılmaya çalışılmıştır (7).

Belli bir teorik temele dayanmadan tesadüfi deneyler sayesinde sentezi gerçekleşen boya ve boyar maddeler de vardır. Bu tesadüfi deneyler sayesinde birçok boyar madde sentezi gerçekleşmiş ve bunlar önemli buluşlar olarak tarihe geçerek insanoğlunun hayatını kolaylaştırmıştır. Tarihteki bu önemli buluşları kronolojik olarak incelediğimizde boya ve boyar madde endüstrisindeki gelişimi daha net görebiliriz.

1858-1864 yılları arasında diazonyum bileşiklerinin keşif edilmesi reaksiyonları keşfedilmiştir. Daha sonra Kekule tarafından 1865 yılında, benzenin yapısının aydınlatılmasının ardından Graebe ve Liberman ilk sentetik alizarini 1868 yılında elde etmiştir. Böylece boya endüstrisine büyük katkı sağlayan buluşlar tarihe adını

yazdırmıştır. Bilime katkı sağlayan bu buluşlar, günümüzde yapılan çalışmaların temelini oluşturarak bilimin emin adımlarla ilerlemesini sağlamıştır (3).

1870-1910 yıllarına gelindiğinde ise boya ve boyar madde endüstrisinde altın devrinin yaşandığı bir dönem olarak hafızalara kazınmıştır. Bunun nedeni olarak bu yıllar arasında boyar maddelerin elde edilmeleri ve uygulanmalarıyla ilgili birçok buluş ortaya çıkarılmış ve boya endüstrisi kimya endüstrisinin en önemli dallarından biri haline gelmiştir. Bu buluşlardan önde gelenleri sırayla anlatılabilir (3-5,8).

1870 yılında Kekule tarafından diazolanmış anilin fenolle kenetlenerek ilk hidroksi azo boya elde edilmesinin ardından 1880 tarihinde, Alman kimyacı A. Baeyer ilk sentetik indigoyu elde etmiştir. Daha sonra Read Holliday ve oğulları ilk olarak para kırmızısı metodunu geliştirerek kumaş üzerinde azo boyası oluşturma işlemini gerçekleştirmişlerdir. 1884 yılına gelindiğinde ise, P. Boettiger kongo kırmızısı, A. G. Green ise primulin adıyla bilinen sülfür boyasını elde etmiştir. Bu şekilde boya ve boyar madde endüstrisi yıllarca üzerinde geliştirilen çalışmalar sayesinde ilerleme kaydetmiştir.

1889-1899 yılları arasında, R. Lauc, K. Krekeler ve H. Ruzel yün boyamada kullanılabilecek ilk kromlamalı boyayı geliştirmişlerdir. Böylece yün boyamanın temelleri atılmış olup yün ve boya endüstrisi iş birliği halinde çalışmalar üretmeye başlamıştır. 1890-1899 yılları arasında, H. R. Vidal tarafından tiyolama metodu geliştirilmiştir. Bu çalışmayla 2,4-dinitrofenolden sülfür siyahı adlı boya elde edilmiştir. Bu boya günümüze kadar gelen ve en çok kullanılan boyalardan biri olarak bilinmektedir. 1894-1899 yılları arasında ise, R. E. Schmidt tarafından alizarin siyanin ve alizarin safirol, O. Unger tarafından alizarin gök mavisi adlı boyalar keşfedilmiştir. Görüldüğü üzere yıllar geçtikçe birbiri ardına yapılan deneyler boyar madde endüstrisine büyük bir katkı sağlamış ve boyar maddenin bugünlere gelmesi sağlanmıştır.

1901 tarihinde indantren mavisi R. Bohn tarafından, 1908'de ise purpur adlı boya Friendlaendar tarafından sentezlenmiştir (3,9). 1910 yılına gelindiğinde ise belli başlı boya sınıfları oluşturulmuş ve her birinde birçok boya maddesi keşfedilmiş olarak bulunmaktaydı. Daha sonra yapılan çalışmaların birçoğu mevcut boyaların kullanım alanlarını genişletmek ve daha iyi boyama metotları geliştirmek üzere yoğunlaşmıştır.

Bu adımdan sonra 1915 tarihinde "metal kompleks" boyar maddeler, 1956'da ise reaktif boyar maddeler piyasaya sürülmüştür (3).

Türkiye'de boya endüstrisinin gelişiminin nasıl başladığını öğrenmek için geçmişe doğru yolculuk yaparak bunu öğrenmek mümkündür. Ordunun ihtiyacı olan haki renkli boyanın üretimiyle endüstri gelişmeye başlamıştır. Ordunun bu ihtiyacını gidermek amacıyla çalışmalara başlandı. Bu sebeple Karabük Demir Çelik Fabrikaları'nda yan bir tesis kurulup bu tesiste fabrikanın yan ürünlerinden olan antrasen isimli maddenin eritilişi sonucu "Karabük Hakisi" ismi ile boyar madde üretimi ilk olarak 1943 yılında gerçekleştirilmiştir. Bu sayede ülkemizde boya endüstrisi gelişmeye başlamıştır (3,9).

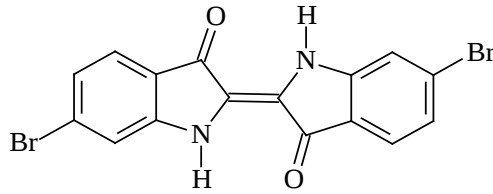
Günümüzde ticari boyutlarda boyar madde üretimi ve tüketiminin yanında yeni boyar maddelerin sentezlenmesi üzerine çalışmalar devam etmektedir. Yeni boya ve boyar maddelerin üretimi bilim ve ekonomi açısından oldukça önemlidir. Azo boyar maddeleri ve metal içeren azo boyar maddeler üzerinde en çok çalışılan boyar maddeler olmalarına rağmen son yıllarda görülmüştür ki azo boyar maddelerin yapısında amino grubu içeren türlerin kullanımı, kanserojen etkisi ve bu grupların oluşturduğu tuzların toprakta parçalanmaması nedeniyle kullanımında sınırlamaya gidilmiştir. Bu sebeple insan sağlığı açısından tehlike teşkil etmeyen boyar maddelere ihtiyaç duyulmaktadır (3).

Doğal boyar maddeler genel olarak hayvanların deri ve salgı bezlerinden, bitkilerin kök, kabuk, tohum, meyve gibi kısımlarından ve maya bakterileri gibi mikroorganizmalardan basit kimyasal işlemler uygulanarak elde edilebilmektedir. Bu tarz boyar maddelerin birkaç tanesini tarihi açıdan önemleri nedeniyle sağladıkları renklere göre incelenebilmektedir.

4.2.1. Mor Renk

Eski çağlarda en aranan renklerden biri olan erguvan (purpur), nadir bulunması nedeniyle pahalı olduğundan bu renk toplumda gücün ve yüksek mevkinin simgesi olarak kabul edilmekteydi. Jül sezar, mor tolgayı kendinden başkasının taşımasını yasaklamıştı. Bunun yanında Neron zamanında bu rengi hak etmeden taşımak veya bu renge başka bir rengi ilave etmek hakaret olarak nitelendirilirdi ve cezası ölüm olarak belirlenmişti.

Erguvan rengi, İsa'dan 1600 yıl önce Giritte purpura ve Murex ismiyle anılan iki kabuklu deniz hayvanından, uzun zaman alan çalışmalar sonucu elde edilmiştir. Bunun yanısıra bir araya gelen birkaç araştırmacının bu konudaki fikri ise bu boyar maddenin tarih öncesi zamanlarda İndogermenler tarafından bilindiği üzerineydi. Bu boyar madde hayvanın bağırsak kanalındaki salgı bezinden salgılanıp rengi doğal halde, sarımsı yeşil olarak belirtilmiştir. Güneş ışığının etkisiyle çeşitli renkler üzerinden erguvana dönüşen bu renkle boyama sanatı 12. yy sonlarına doğru bilinmeyen bir şekilde ortadan kaldırılmıştır (4). Günümüze geldiğimizde ise çok pahalı olmasından ötürü kullanılmamaktadır. Ancak bunun yerine aynı rengi veren sentetik boyalar alternatif olarak kullanılmaktadır. Bunun yanında yapılan çalışmalar sonucunda görülmüştürki Tyrian moru 6,6'-dibrom yapısındadır.



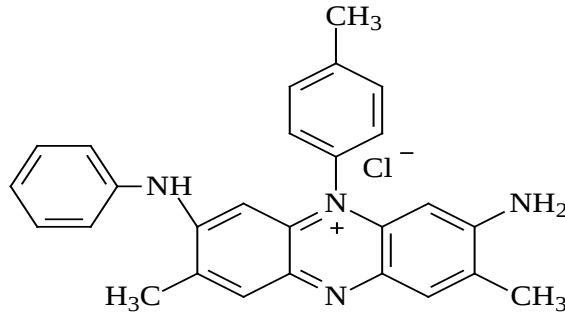
Sur Moru(Tyrian Purple)

Şekil 1. Sur moru boyar maddesi (3)

4.2.2. Kırmızı Renk

Eski çağlardan bu yana yararlanılan renkli boyar madde bitkisel bir kök boyası (Lat. Rubia tinctorum Alm. Krapprot, İ. Madder red) olup Akdeniz çevresi ülkelerinde yetişmektedir. "Türk Kırmızısı" adıyla Avrupa'da ismi duyulan bu bitkinin boyar maddesi eskiden Anadolu'nun çeşitli bölgelerinde yetişmekteydi. 19. yy sonlarına doğru Osmanlı Devleti'nin dış ticaretinde tahıl ve ipekten sonra gelen üçüncü önemli ihraç maddesi olarak kayıtlara geçmiştir. Bu da Osmanlı'daki önemini ortaya koymaktadır. Bitki kökünden elde edilen boyar maddelerden biri ve en önemlisi olan alizarin daha sonradan sentetik olarak elde edilmiştir. Bunun nedeni olarak sentetik boyar maddenin üretimi doğal boyar madde üretimine göre daha hızlıdır. Haslık derecesi yüksek olduğundan halıcılıkta, yünü kırmızı renge boyama işleminde

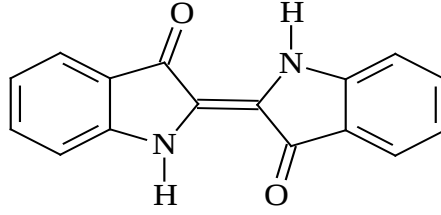
kullanılmıştır. Böylece farklı alanlarda kullanılmaya başlanan bu boyanın elde edilebileceği farklı kaynaklar araştırılmıştır. Kırmızı renkli boyar maddenin elde edildiği başka kaynaklar da keşfedilmiş olup bunlardan biri de kırmızı (*Coccus ilicis* Alm. Kermes) adlı bir böcektir ve kırmızı meşesi (*Quercus coccifera*) üzerinde yetişerek böceğin dışından kırmızı rengi veren kermes asidi izole edilerek elde edilmektedir. Bu işlemle 7000 kurutulmuş böcekten yarım kilo boyar madde elde edilebilmektedir (4).



Şekil 2. Alizarin boyar maddesi (3)

4.2.3. Mavi Renk

Çivit otu (Lat. *Isatis tinctoria* Alm. Waid, İ. Woad), turpgiller ailesinden bir bitki türü olup içeriğinden mavi rengin elde edildiği indigo boyar maddesi bulunmaktadır. Mavi rengin çeşitli tonlarını ihtiva eden boyar madde, fermentasyon yolu ile izole edilerek elde edilmektedir. Bu bitki Ortaçağ boyunca Avrupa'da kullanılmış olup sentetik indigonun 1897 yılında piyasaya sunulması ile doğal indigo önemini yitirmiştir (4). İndigo genel olarak pamuklu kumaşların boyanmasında kullanılan bir boyadır ve özellikle kot boyası olarak bilinmektedir. Aşağıda Şekil 3'te indigo boyar maddesinin yapısını görebiliriz.



İndigo

Şekil 3. İndigo boyar maddesi (3)

4.2.4. Sarı Renk

Sarı renkteki boyar maddesi, boyacı resedası veya muhabbet çiçeği (reseda luteola, Alm. Wau) bitkisinden elde edilmektedir. Bu bitkiyi her yerde görmek mümkün olup oldukça hızla yetişen bu bitkiyi yol kenarı, moloz yığınları veya evlerde saksılarda yetiştirebilirsiniz. Kolay bulanabilir bir bitki olduğu için kullanım kolaylığı sağlamaktadır. Tüm yeşil kısımları ve çiçekler, luteolin denilen boyar maddesini içermektedir. Romalılar, bu boyar maddeyi elde etmek için bitkiyi, çay gibi kaynattıktan sonra derişik özsuğunu seyreterek sarı renge boyamada kullanmışlardır. Soğanlı ve güzel bir bitki olmasıyla dikkat çeken safran da (lat. Cracus) Yunanlılar tarafından sarı renk elde edilmesinde kullanılmaktaydı. Buradan da anlaşılacağı gibi sarı rengin elde edilmesinde farklı bitki seçenekleri mevcuttur (4).

4.3. Boyar Maddeler

Renk kağıdın çekiciliğini artırarak içindeki maddenin veya kağıdın daha kolay satılmasını sağlamaktadır. Bir boyar madde diğer bir maddeye renk veren maddedir. Pigmentler ise çözünmeyen boyar maddeler olup kendi renklerini kağıda aktarmaktadırlar (10). Renkli kağıtların büyük bir kısmı (%90'ın üzerinde) hamurun öğütülmesi esnasında boyanın katılmasıyla yapılmaktadır (11). Başka bir uygulama olarak kağıdın boyanması %80 süspansiyona katılma şeklinde yapılır. Boyar maddeler %90 dövücülerde, tutkallama presinde veya kalenderlerde ve kuşe kağıt yapımı sırasında kullanılmaktadır. Eğer bir kağıt içinde değişik sınıf boyalar kullanılıyorsa kullanım sırasının şu şekilde olması beklenmektedir.

- a) Önce asit boya, sonra bazik boya, sonra da kolofan, şap kullanılır.
- b) Önce direkt boya, sonra bazik, sonra da kolofan ve şap kullanılır.
- c) Önce asit boya, sonra tutundurucu madde, sonra da direkt boya kullanılır (10).

Boyar maddeler ile selüloz arasında oluşan reaksiyonların anlaşılması sadece boyacı açısından değil, bu reaksiyonların selüloz liflerine verdikleri ışık bakımından da önem teşkil etmektedirler. Boyar maddelerin selüloz lifleri tarafından tutulması birçok özelliğe bağımlı olup bu özellikler boyar maddenin kimyasal yapısı, lifin kapiler gözenekleri, lif yüzeyinin polaritesi ve yapısı olarak ifade edilir (11). Selüloz ve hemiselülozlar bünyelerindeki hidroksil ve karboksil grupları ile ağartma sırasında oluşan karboksil ve karbonil gruplarından dolayı eksi yük taşımaktadırlar. Eğer boyar madde artı yüklü ise doğrudan selüloz üzerine tutunabilmektedir. Ancak eksi yüklü ise boyayabilmek için şap ve polielektrolitler gibi yardımcı tutundurucu maddelerin katkı maddesi olarak kullanımı gereklidir (10).

Renklerin önemini daha iyi kavramak için renksiz bir dünya hayal etmeyi deneyelim. İşte o an renklerin önemini daha iyi anlamak mümkündür. Renklerin hayatımızdaki önemini anlamak işte bu kadar kolayken kimyasal yapıları hakkında ne bildiğimizi tartışabiliriz. İşte hayatımızı renklendiren bu maddeleri, kimyasal yapıları bakımından anorganik ve organik boya maddeleri olmak üzere ikiye ayırmak mümkündür. Pigment veya boyar madde kavramı ise söz konusu boyanın işlem yapıldığı maddelerde nasıl bir tepki vereceğine göre değişmektedir. Bunun yanında bir madde aynı anda hem boyar madde hem de pigment olabilmektedir (12). Bu tanımları tüm özellikleriyle anlayabilmek adına boya ve boyar maddeleri temeline inerek açıklayıcı bir anlatımla daha iyi anlayacağınızı düşünüyorum. Öncelikle boyar maddeler elde edilmiş yöntemlerine göre 3 sınıfa ayrılabilir. Bu sınıfları aşağıdaki gibi açıklamak mümkündür.

Doğal Boyar Maddeler: Geçmişe doğru yolculuk yaptığımızda ilk kullanılan boyaların hayvanlardan ve bitkilerden elde edildiğini görmekteyiz ve daha önceki konularda boya ve boyar maddelerin geçmişini incelediğimizde de bunu görmek mümkündür. Bitkilerin kökleri ve meyveleri boyar madde eldesinde kullanılmaktaydı. Günümüzde boya ve boyar maddelerin nasıl elde edildiğini incelediğimizde geçmişle

benzer olan çalışmalar mevcuttur. Boyanın elde edildiği doğal maddelerin başlıcalarını sıralamak gerekirse; kına, safran, kırmızı beği (Akdeniz'e özgü bir cins yumuşakça), çivit, turnusol bitkileri örnek olarak verilebilmektedir.

Madeni Boyar Maddeler: Doğal boyar maddelerde olduğu gibi madeni boyar maddeleri de incelerken geçmişe doğru yolculuk yapmak gerekir. Boyanın tarihi uzun yıllar öncesine dayanmakla birlikte insanların bitki ve hayvanlardan elde ettikleri boyaların aksine madenlerden de boya elde ettikleri ve bu boyaların daha kaliteli olup solmayan renkler verdiği görülmüştür. Bu da boya ve boyar maddelerin günlük hayatta kullanılabilirliğini arttırarak insanoğlunun hayatını kolaylaştırmıştır. Günümüzde kullanılan başlıca madeni boyar maddelere örnek olarak kurşun, çinko, baryum, antimon, krom, kadmiyum ve kobalt bileşikleri verilebilmektedir.

Sentetik Boyar Maddeler: Geçmişin aksine günümüzde madeni ve doğal boyar maddeler yerine sentetik boyar maddeler kullanılmaya başlanmıştır. Bunların daha sık kullanılma nedeni olarak elde ediliş kolaylığı ve daha zengin renk yelpazesine sahip oluşu olarak ifade edilebilir. Bunun yanında sentetik olup sağlık açısından yararlı maddelerin retilbilmesi de sentetik boyaların üretimini kaçınılmaz kılmıştır. Sentetik boyar maddelerin hammaddesi maden kömürünün kapalı fırınlarda ısıtılmasıyla elde edilmektedir. Bu işlem sayesinde kömürün katranı ayrılarak boyamaddeler de katranın farklı sıcaklıklarda ısıtılması yolu ile ayrılmaktadır. Burdan da anlaşılacağı gibi her hammadde farklı sıcaklıklarda kaynamaktadır. Bu sebeple hammaddelerden her biri katranın o maddeye özgü sıcaklıkta kaynatılmasıyla elde edilir. Elde edilen ham maddeler ya renksiz sıvılar ya da kristaller halindedir.

Sentetik boyar maddeler; bazik, asidik, tuz boyalar, geliştirme boyaları, kp boyalar ve lak boyar maddeler olmak üzere başlıca altı sınıfa ayrılmaktadır (13).

4.3.1. Boyar Maddelerin Sınıflandırılması

Boyar maddeler çeşitli özelliklerine göre belli sınıflara ayrılmakta olup bu sınıflandırmayı yaparken boyar maddelerin nrlk, kimyasal yapı, kullanılış yerleri ve boyama özellikleri göz önünde bulundurulmaktadır.

4.3.1.1. Çözünürlüklerine Göre Boyar Maddeler

Suda çözünen boyar maddeler tanımlanırken bu sınıfa dahil olan boyar maddelerin, molekül olarak en az bir tane tuz oluşturabilen grup taşıması beklenir. Bunun yanında boyar madde sentezi esnasında kullanılan başlangıç bileşikleride suda çözünen grup içermiyorsa, bu grup daha sonradan moleküle eklenerek çözünürlük sağlanabilmektedir. Buna rağmen boyar maddenin sentezinde başlangıç maddelerinin iyonik grup içermesi tercih edilmektedir. Aşağıda görüldüğü üzere suda çözünebilen boyar maddeler tuz içeren grubun yapısına göre üçe ayrılmaktadır (7).

Zwitter İyon Karakterli Boyar Maddeler: Bu tarz boyar maddeleri incelerken dikkat edilmesi gereken en önemli nokta hem asidik hem de bazik gruplar bulundurup iç tuz oluşturmalarıdır. Bu tip boyalar boyama işlemi esnasında bazik veya nötral ortamda anyonik boyar madde gibi davranış göstermektedirler (7,14).

Katyonik (Bazik) Boyar Maddeler: Kağıt, poliakrilonitril, naylon ve polyesterleri boyamak için kullanılan bu boyar maddeler aynı zamanda suda çözünebilir özelliğe sahiptir (15,16). Moleküldeki çözünürlüğü sağlayan bir bazik grup (örneğin $-NH_2$), asitlerle tuz oluşturmuş şekilde bulunmaktadır. Asit olarak anorganik asitler (HCl) veya karboksilik asit gibi organik asitler kullanılabilir (3,7).

Anyonik (Asidik) Boyar Maddeler: Suda çözünebilen gruplar olarak en çok sülfonik ($-SO_3$), kısmen de karboksilik ($-COOH$) asitlerin sodyum tuzlarını içermektedirler. Boyama özelliklerine göre sınıflandırırken asit ve direkt boyar maddeleri anyonik boyar madde örnekleri olarak gösterebiliriz.

Suda çözünmeyen boyar maddelerin birçok alanda kullanımı mümkün olmaktadır. Bu özellikteki boyar maddeleri de çeşitli gruplara ayırmak mümkündür (7).

Substratta Çözünen Boyar Maddeler: Bu tipteki boyar maddeler suda çok ince süspansiyonları halinde dağıtılıp özellikle sentetik elyaf üzerine uygulanır. Örnek vermek gerekirse, dispersiyon boyar maddeleri tam olarak bu sınıfa girmektedir (7,14).

Organik Çözücülerde Çözünen Boyar Maddeler: Her çeşit organik çözücüde çözünebilen bu boyar maddeler sprey veya lak halinde yüzeye uygulanabilmektedirler. Bu tip boyar maddeler solvent boyar maddeler olarak da bilinmektedir. Bunların

kullanım alanlarına örnek olarak matbaa mürekkebi, vaks ve petrol ürünlerinin renklendirilmesi verilebilir (7).

Geçici Çözünürlüğü Olan Boyar Maddeler: Elyafa direk uygulanmazlar. Bu bileşikler birkaç safhadan geçerek uygulanabilirler. Öncelikle çeşitli indirgeme maddeleri ile suda çözünebilir forma getirildikten sonra elyafa uygulama işlemine geçilmektedir. Bu işlem sonrasında elyaf içindeyken tekrar yükseltgenerek suda çözünmez haline getirilmektedirler. Küp ve kükürt boyar maddeleri bu sınıfa dahil edilmektedir (3).

Polikondenzasyon Boyar Maddeleri: Adından da anlaşılacağı gibi elyaf üzerine uygulama işlemi sırasında ve sonrasında birbiri ile veya başka moleküllerle kondense olarak büyük moleküller oluşturan boyar maddeler olarak tanımlamak mümkündür.

Elyaf İçinde Oluşturulan Boyar Maddeler: Elyaf içerisinde iki bileşen arasında geçen kimyasal reaksiyon sonucunda elde edilen boyar maddeler bu sınıfa girmekte olup bu tipteki boyarmaddeler suda çözünmezler. Bu tarz boyar maddelere örnek olarak azoik boyarmaddeler ve ftalosiyaninler verilmektedir (7).

Pigmentler: Boyar maddelerden farklı yapıdaki bileşikler olup elyafa ve diğer substratlara karşı affinitesi olmayan bileşikler olarak tanımlanmaktadırlar. Pigmentler, süspansiyonları halinde kuruyan yağlar ve reçineler içinde uygulanmaktadırlar.

4.3.1.2. Boyama Özelliklerine Göre Boyar Maddeler

Genellikle boyar maddenin kimyasal yapısının aksine onun hangi metotla maddeyi boyayabildiğine bakıldığı için bu tipteki boyar maddeler uygulanan metotlara göre belirli sınıflara ayrılmaktadırlar (3,7).

Bazik (Katyonik) Boyar Maddeler: Kağıt, poliakrilonitril, naylon ve polyesterleri boyamak için kullanılan bu boyar maddeler aynı zamanda suda çözünebilir özelliğe sahiptir (15,16). Eğer bir boya bünyesinde aminojen (NH_2) grubu içeriyorsa ve yeterli oranda NH_2 grubu varsa suda çözünmektedir. Amin grubu alkali özellik gösterdiğinden bu boyalara bazik boyar maddeler denmektedir. Ticari bazik boya bir asitle (HCl) aminojen grubunun reaksiyonu sonucunda bir tuz oluşturmasıyla elde edilir ve suda kolaylıkla çözünmektedir (10). Molekülün yapısal özelliğinden kaynaklı anyonik grup ihtiva eden liflere bağlanma gerçekleşmektedir (17). Bazik boyalar; klorit, hidroklorit,

sülfat ve oksalat tuzları şeklinde renkli bazlardır. Artı yüklü olup lignin, tanen ve selülozik maddeler gibi eksi karakterdeki maddelere kolayca tutunmaktadırlar. Ancak, saf selülozla pek uyuşmayıp, ağartılmamış hamurlara ve mekanik hamura uygun oldukları ifade edilmektedir. Bazik boyaların renk verme yeteneği yüksek olup kullanımı ekonomiktir. Bu nedenle sarı, mavi, yeşil, kahverengi ve mor renkleri ucuz kağıtların boyanmasında tercih edilmektedir. Parlaklıkları çok yüksek, fakat ışığa karşı dayanım zayıftır. Bazik boyaların, esmer selülozlara karşı cazibelerinin kuvvetli olup, beyaz selülozlara karşı ise zayıf olması nedeniyle, karışık hamurlarda farklı liflere karşı eşit şekilde boyamama eğilimi gösterirler.

Asidik (Anyonik) Boyar Maddeler: Eğer bir boya bünyesinde fenolik hidroksil (OH) ve sülfon (SO_3H) grupları ihtiva ediyorsa suda çözünmektedir. Bu gruplar asidik karakterde olduklarından bu özellikteki boyalara asidik boyar maddeler denir. Öte yandan asidik boyar maddeleri, içlerindeki boya iyonu asit kökü olup sodyum, potasyum ve amonyum gibi katyonlarla birleşik halde bulunduğu tuzlar olarak tanımlamak mümkündür. Asidik boyar maddelerin, karışık lifli hamurlarda benek yapmama bakımından bazik boyar maddelere karşı üstünlükleri bulunmaktadır. Selüloza karşı cazibeleri olmayıp, lifler üzerinde tutkal ve şap yardımı ile kalmaktadırlar. Asidik boyar maddelerin proteinlere karşı etkisi kuvvetli olduğundan, tekstil endüstrisinde yün boyanması için geniş ölçüde kullanımı mevcuttur (10,11). Ayrıca azda olsa kağıt, deri, yiyecek ve kozmetik ürünlerinde de kullanılmaktadır (15,16).

Direkt Boyar Maddeler: Suda çözünebilen ve sulu çözeltide selülozik elyaflara uygulanabilen boyar maddeler olarak tanımı mümkün olup yapısal olarak incelediğimizde asidik boyar maddelerle neredeyse aynıdır. Ancak boyama işlemi açısından birbirlerinden farklılık göstermektedirler. Boyama işlemi pamuk, selüloz, kağıt ve az da olsa naylon üzerinde yapılmaktadır (15-17). Direkt boyalar, boya asitlerinin sodyum tuzlarıdır. Molekül ağırlıkları yüksek olup selülozla kolaylıkla uyuştuklarından direkt boya adı verilmiştir. Şap kullanılmadan da tutunabilirler. Fakat şap kullanımı tutunmayı arttırıcı özellik göstermektedir. Direkt boyalar lif karışımına toz halinde veya önce sıcak suda çözüp çözelti halinde katılabilmektedir. Renge bir zarar vermeden kaynatılabilmektedirler. Direkt boyaların boyama gücü bazik

boyalardan daha az olup ışığa dayanım özelliği olarak asidik ve bazik boyalardan daha iyidir. Direkt boyalar genellikle kurutma kağıdı, emici kağıtlar, temizlik kağıtları ve ince kağıtların boyanmasında kullanımı mevcuttur. (10,11).

Mordan Boyar Maddeler: Bu tarz maddeler sentetik ya da doğal olabilmektedir (7,17). Doğal olan mordanlara; pelit, koruksuyu, sirke, yosun, kil ve kül örnek verilirken sentetik mordanlara ise; şap ($KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$), göztaş gibi yapılar örnek olarak verilebilmektedir. Mordanlar boyanın elyafa bağ yapmasını sağlamasının yanında farklı renk tonları elde etmek için de kullanılmaktadır (18). Mordan boyar maddelerin kullanılmasının nedeni olarak çoğu doğal boyar maddenin düşük ışık ve yıkama haslığına sahip olması gösterilmektedir. Bu nedenle boyama öncesi ve sonrasında haslığı arttırmak amacıyla mordanlama işlemi yapılmaktadır (19-21).

Reaktif Boyar Maddeler: Bu tarz boyar maddeler elyafa kovalent bağ ile bağlanma özelliğiyle bilinirler. Genel olarak her reaktif boyar maddenin kromofor bir renkli grup taşımasının yanında bir moleküle çözünürlük sağlayan grup içermektedir. Özellikle pamuğa uygulanan bu boyar maddeler, yün ve naylon için daha az kullanılmaktadır. Reaktif boyar maddeler çok dar absorpsiyon bandları gösterip parlak renkler de verebilmektedirler (15-17).

Küp Boyar Maddeler: Bu tarz boyar maddeler karbonil grubu içerirler ve suda çözünmediğinden indirgeme ile suda çözünür hale getirilerek elyafa çektilmektedir (17). İndirgeme işlemi alkali banyosunda yaptırılıp sonrasında çözülebilir löko tuzları haline getirilerek selülozik elyaflara uygulanabilmektedirler (15,16).

İnkişaf Boyar Maddeleri: Azoik boyar maddeler olarak da sınıflandırılan bu maddeler elyaf üzerine oluşturulup son şekline dönüştürülen bütün boyar maddeleri kapsamaktadırlar. Naftol-As boyar maddeleri ve ftalosiyanın boyar maddelerini de kapsayan bu boyar maddelerin son hali suda çözünmez (7,17). Bu bileşikten farklı yapıda elyafa bağlanma eğilimi olan bileşen önce elyafa emdirilip sonrasında ise ikinci bir maddeyle reaksiyona sokularak suda çözünmeyen son hali elde edilmektedir. Bu süreç zarfında diazonyum tuzu (suda çözünür) ile beta-naftol türevi elyaf üzerinde reaksiyona sokulmaktadır. Bu tip boyar maddeler yıkanmaya karşı dayanıklı olup renk kalitesinden dolayı parlaklığını kaybetmediği için pamuk, nadiren de olsa naylon, asetat ipeği, ipek ve polyester elyafın boyanmasında kullanılmaktadırlar (22).

Metal-Kompleks Boyar Maddeler: Adından da anlaşılacağı üzere belirli gruplara sahip bazı azo boyar maddeleri ile metal iyonlarının kompleks oluşturmaları vasıtasıyla sentezlenen boyar maddeler olarak tanımlanırlar. Bu yapılarda metal katyonu olarak Co, Cr, Cu ve Ni iyonları kullanılmaktadır. Kompleks oluşumunda ise azo grubu rol almaktadır (7,17). Bu tip boyar maddeler suda çözünebilen bileşiklerdir. Ancak bu boyar maddelerin aksine asidik boyar maddeler daha parlak ve canlı renklere sahiptir. Yüksek haslığa sahip bu maddeler koyu renklerin boyanmasında tercih edilmektedir. Ekonomik yönden ucuz olan bu maddelerin ışık ve yaş haslıkları iyi olmasına karşın migrasyon yetenekleri iyi değildir (23).

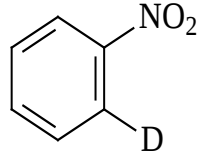
Dispersiyon Boyar Maddeleri: Dispers boyar maddeler genellikle suda çözünmezler yada eser miktarda çözünürler. Bu özelliklerinden ötürü sudaki dispersiyonları halinde poliestere üzerine uygulanırlar. Bunun yanında naylon, selüloz, selüloz asetat ve akrilik elyaflar üzerinde ise daha az tercih edilmektedirler (15-17).

Pigment Boyar Maddeleri: Suda çözünmeyen özellikteki bu bileşikler, kimyasal bağ ve absorpsiyon yapmazlar. Bağlayıcı grupları olmadığından elyaf ile muamele edildiğinde hiçbir kimyasal reaksiyon vermemelerinin yanında aralarındaki mekanik tutunmadan bahsedilebilmektedir. Mekanik tutunma ise bağlayıcı madde olarak isimlendirilen yardımcı bir madde ile gerçekleşmektedir. Bu yardımcı maddelere örnek olarak sentetik reçineler verilebilir. Renk verimi ve parlaklığı yüksek olan bu maddeler ayrıca geniş renk yelpazesi özelliği taşımaktadırlar (17,24).

4.3.1.3. Kimyasal Yapılarına Göre Boyar Maddeler

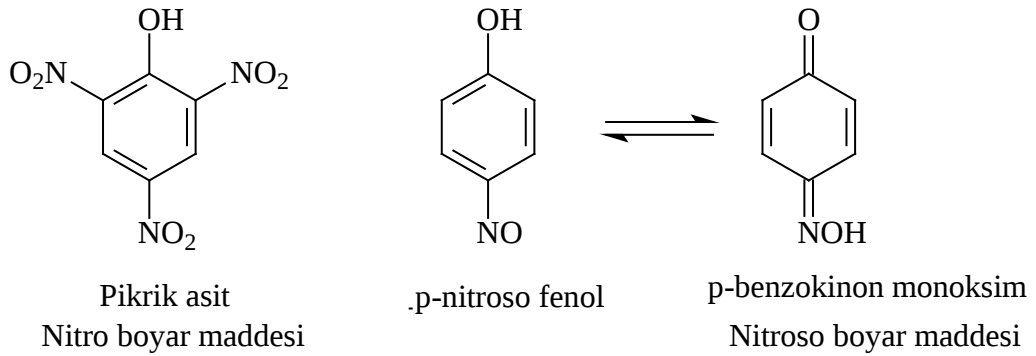
Boyar maddeleri yapılarına göre birbirinden ayırırken, molekülün esas yapısı temel alınabildiği gibi, molekülün kromojen ve renk verici özellikteki bölümü de temel olarak kabul edilebilmektedir. Boyar maddelerin sentez ve pratik uygulama işlemleri değerlendirilerek kimyasal açıdan bir sınıflandırılma yapılmaktadır.

Nitro ve Nitroso Boyar Maddeleri: Kimyasal yapılarına bakıldığında nitro ve nitroso grubu ile elektrodonor grubu içerdikleri görülmektedir. Aynı yapılara teknik açıdan bakıldığında ise bu tip grup boyar maddelerin tümünde nitro veya nitroso grubu ile elektrodonor grup birbirlerine göre orta pozisyonda bulunmaktadır.



Şekil 4. Nitro veya nitroso grupları ile elektrodonör grup birbirlerine göre orto pozisyon
 *D = elektro donör grup, -OH, -NR₂ (7,14)

Genel olarak incelemesi yapıldığında nitroso bileşikleri diğer boyar maddelerin sentezinde kullanılmaktadır. Ancak tek başlarına bakıldığında ise hiçbiri boyar madde özelliği taşımaz ve o-nitroso bileşikleri kompleks oluşturuca karaktere sahip olup ağır metal tuzları ile meydana getirildiklerinde boyar madde özelliği göstermektedirler. Bu durum nitro boyar maddelerle karşılaştırma yapıldığında ise teknik açıdan öneme sahip olanlar o- yerine elektrodonör grup ihtiva etmektedirler. Pikrik asit bilinen en eski nitro boyar madde olarak literatüre geçmiştir.

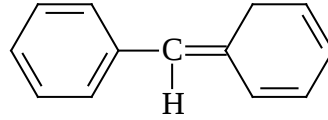


Şekil 5. Nitro boyar maddesi ve nitroso boyar maddesi (3,7)

Kükürt Boyar Maddeler: Bu tip boyar maddeler suda çözünmezler. Makromolekül yapılı ve renkli organik bileşikler olup aromatik aminlerin ve fenollerin kükürt ve sodyum sülfür veya sodyum polisülfür ile reaksiyonundan meydana gelmektedirler (7).

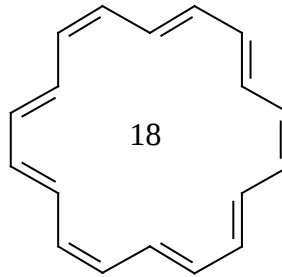
Polimetin Boyar Maddeleri: Bu tip boyar maddeler renkli bileşikler içerisinde büyük bir grup oluşturmaktadır.

Arilmetin Boyar Maddeleri: Genel formülleri $Ar-X=Ar$ şeklinde olup bu formülde X, $-CH=$ veya $-N=$ şeklinde olabilmektedir. X'in $-CH=$ şeklinde olduğu bileşiklere diarilkarbonyum denirken, $-C(Ar)=$ şeklindekilere ise trialkilkarbonyum bileşikleri adı verilen bu tipteki boyar maddelerin sayısız karakteristik reaksiyonları olup bunun nedeni olarak bu grubun elektrofil özelliği gösterilmektedir.



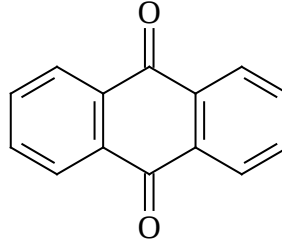
Şekil 6. Arilmetin boyar maddesi

Aza [18] Annulen Boyar Maddeleri: Bu tarz boyar maddeler 18π elektronlu ve konjüge durumda çift bağları içeren sıklık bir renk verici yapıya sahip olan [18] annulen tipi boyar maddelerin en önemlilerinden bahsetmek gerekirse, yeşil yaprakların boyar maddeleri ile ftalosiyanın boyar maddelerini söyleyebiliriz.



Şekil 7. Aza [18] annulen boyar maddesi

Karbonil Boyar Maddeleri: Bu türdeki boyar maddelerin tanımlamasını yaparken molekül yapısındaki konjüge çift bağlar ve bunlara konjüge durumda en az iki karbonil grubu içeren bileşikler esas olarak alınmaktadır. Aşağıda bu tanıma uyan bir karbonil boyar maddesi gösterilmektedir.



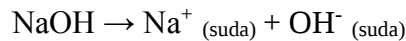
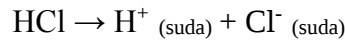
Şekil 8. Karbonil boyar maddesi (7,14)

Azo Boyar Maddeleri: Bunlar organik kökenli olup organik kökenli boyar maddelerin en önemli bölümünü oluşturmakla birlikte sayı bakımından diğer gruplardaki boyar maddelerin toplamından fazla olan azo boyar maddeler geniş bir çalışma alanına sahiptir (7).

4.4. Asitler ve Bazlar

Kimya bilimi günümüze kadar birçok asit-baz tanımıyla karşılaşmıştır. Bu tanımlamalar bilimin ilerlemesiyle daha iyi yerlere gelmiştir. İlk zamanlarda asit ve bazları turnusol kağıdının renginin değişimine ve tat duyusuna göre yapıldı ve bu tanımlamaya göre asit tadı ekşi ve turnusol kağıdının rengini kırmızıya çeviren, baz ise tadı acı ve turnusol kağıdının rengini maviye çevirendi. Geçen yıllarda bilim insanları bu tanımlamalar üzerinde çalışmalar yaparak daha geniş tanımları içeren teoriler ortaya koymuştur ve günümüzde hala bu tanımlar kullanılmaktadır (25).

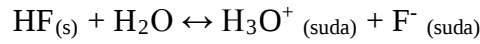
Arrhenius Asit-Baz Teorisi: 1887 yılında Svante Arrhenius tarafından oluşturulan bu teoriye göre, sulu çözeltilerine hidrojen iyonu (H^+) verebilen maddelere asit, hidroksit iyonu (OH^-) verebilen maddelere baz denilmiştir. Bu tanım esas alınarak yapısında H^+ ve OH^- iyonu bulunan iyonik bileşikler suda çözünerek iyonlarına ayrılmaktadırlar. Bu tanım kapsamına giren maddelere; HCl , HNO_3 , H_2SO_4 , KOH , $NaOH$, $Ca(OH)_2$ örnek verilebilir.



Ancak Arrhenius teorisi yapısında H^+ iyonu bulunmayan (SO_2 , CO_2) ama asidik özellik gösteren, yapısında OH^- iyonu bulunmayan (NH_3) ama bazik özellik gösteren maddeleri

açıklayamamakla birlikte asit yada bazların susuz ortamdaki davranışlarını tanımlayamaz.

Bronsted-Lowry Asit-Baz teorisi: 1923 yılında Danimarkalı Kimyacı Bronsted ve İngiliz Kimyacı Lowry tarafından ortaya atılan bu teori, Arrhenius asit-baz teorisinin tanımlayamadığı davranışları da açıklayarak asit-baz tanımlarına katkıda bulunmuştur. Bu teoriye göre; sulu çözeltilerine proton (H^+ iyonu) verebilen maddelere asit, sulu çözeltilerinden proton alabilen maddelere baz denilmektedir. Bronsted-Lowry teorisini iki denklemle açıklamak gerekirse; HF ve NH_3 'ün suda iyonlaşma tepkimesi verilebilmektedir.

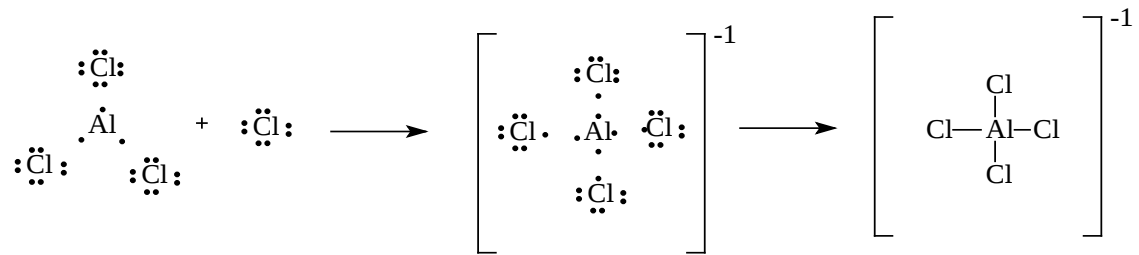


Bu tepkimede HF suya proton vererek asit özelliği gösterirken H_2O , HF 'den proton aldığından baz özellik göstermektedir.



Bu tepkimede NH_3 , H_2O 'dan proton alıp NH_4^+ iyonuna dönüşerek asit özelliği gösterip diğer yandan proton veren H_2O ise baz olarak tanımlanmaktadır.

Lewis Asit-Baz Teorisi: 1923 yılında G.N. Lewis'in geliştirdiği teoriye göre; bağ yapmamış elektron çifti bulunduran ve daha kararlı bir yapı teşkil etmek amacıyla serbest elektronlarını başka bir maddeye verebilen maddelere baz, serbest elektronları alabilen maddeleri de asit olarak tanımlamaktadır.



Şekil 9. Lewis asit ve bazlarının elektron nokta yapısı ile gösterimi

4.4.1. Asitler ve Bazların Genel Özellikleri

4.4.1.1. Asitlerin Genel Özellikleri

Suda çözüldüğünde iyonlaşarak, sulu çözeltileri elektrik akımını ileten ve tatları ekşi olup örnek olarak sirkedeki asetik asit, limondaki sitrik asit ve yoğurt suyundaki laktik asit verilebilir. İndikatörlerin renklerini değiştiren bu maddeler, mavi turnusol kağıdının rengini kırmızıya çevirmektedirler.

4.4.1.2. Bazların Genel Özellikleri

Bazlar da asitler gibi suda çözüldüğünde iyonlaşırlar ve sulu çözeltileri elektrik akımını iletir. Tatları acı olup örnek olarak biberin, kireç kaymağı ve sabun köpüğü verilebilmektedir. Ele kayganlık hissi veren özellikteki maddelerdir. Kuvvetli bazların yakıcı ve tahriş edici etkisi olup asitlerle nötürleşme reaksiyonu vermesi sonucu genel olarak tuz ve su oluşur. Kırmızı turnusol kağıdının rengini maviye çeviren bu maddeler, metallere genellikle etki etmezler (26).

4.5. pH Kavramı

pH çözeltinin asitlik ve bazlık durumunu tanımlayan logaritmik bir ölçü olarak ifade edilir. Saf su H^+ ve OH^- iyonları açısından dengede olup pH değeri 7'dir. pH, H^+ iyonlarının elektrik potansiyellerine bağlıdır. Bu sebeple pH elektrik potansiyeli veya renk indikatörleri yardımıyla ölçülerek sayısal bir değer ifade edilebilir.

pH'nın asitlik ve alkalilikle ilişkisine gelecek olursak; asidite, alkalinite ve pH derecesi birbirinden farklı terimler olup asidite bir yetenek faktörü olup bazı nötürleştirme kapasitesi olurken alkalinite ise asitleri nötürleştirme kapasitesi anlamına gelip aynı zamanda bir yetenek faktörü olarak tanımlanır. Tüm bunların ötesinde pH değeri yoğunluk ve şiddet faktörü olup hidrojen iyonlarının konsantrasyonunu ifade etmektedir. Sonuç olarak pH değeri asitlik ve alkalilik derecesini tanımlamaktadır (2).

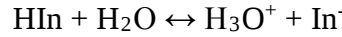
4.6. İndikatörler

İndikatörler, ortamın asidik yada bazik olmasına göre renk değiştirebilen maddeler olarak ifade edilirken bu özellikteki maddelere örnek olarak turnusol kağıdı, fenolftalein çözeltisi ve metil oranj verilebilir (26).

4.6.1. İndikatör Çeşitleri

4.6.1.1. Asit-Baz İndikatörleri

İndikatör seçimi, çözeltinin ne kadar asidik ya da bazik olduğuyla ilgilidir. Bu yüzden seçim yaparken dikkat etmeniz gereken önemli noktalar bulunmaktadır. İndikatörler iki şekilde bulunur. Bunlardan biri HIn ile gösterilip belli bir renge sahip bir zayıf asit ve diğeri de In⁻ ile gösterilip başka bir renge sahip olan eşlenik bazdır. Bir çözeltiye küçük miktarlarda indikatör eklendiği zaman ortamın pH'sını etkilemez. Fakat ortamda bulunan [H₃O⁺] derişimi indikatörün iyonlaşma dengesini etkilediği için indikatör ya asit rengini, ya baz rengini yada karışımın rengini göstermektedir. Burdan da anlaşılacağı gibi çözelti baskın olan indikatör rengini almaktadır. İndikatörün çözeltideki iyonlaşma dengesini yazmak gerekirse bu tepkime aşağıdaki şekilde yazılabilir.



Le Chatelier ilkesine göre bu denklemi açıklayarak daha iyi bir tanım yapmak mümkündür. Çözeltideki [H₃O⁺] derişimini arttırmak için denge sola kaydırıldığında HIn oranı artar ve asit rengi oluşur. Bu durumun aksi gerçekleştiğinde ise yani [H₃O⁺] derişimi azaltılır ve böylece In⁻ oranı artıp baz rengi oluşur. Burdan da anlaşılacağı gibi çözeltinin rengini asit ve bazın bağıl miktarları belirlemektedir. Çözeltinin rengi asit ve bazın bağıl oranlarına bağılı olmakla beraber indikatörün pK_a'sına bağılıdır. Bu bağılılığı bir denklemle ifade ettiğimizde ortaya çıkan sonuç aşağıdaki gibidir.

$$\text{pH} = \text{pK}_{\text{HIn}} + \log[\text{In}^-]/[\text{HIn}]$$

Bunun yanında HIn ve In⁻ derişimleri yaklaşık olarak eşitse indikatör bir yapıdan diğere değişim halinde olup bir ara renk gözlenir. Tam bir renk değişimi yaklaşık olarak iki pH birimi aralığının üzerindeki pH değişimlerinde gözlenir. Bu aralığın ortası $\text{pH} = \text{pK}_{\text{HIn}}$ şeklinde ifade edilir.

Bir asit-baz indikatörü genel olarak çözelti halinde hazırlanarak kullanılmaktadır. İndikatör çözeltisi hazırlanırken su, etanol ya da başka bir çözücü kullanılabilir. Asit-baz titrasyonlarında titrasyon çözeltisine indikatör çözeltisinden birkaç damla damlatılırken daha farklı uygulamalarda ise indikatör çözeltisi emici, gözenekli bir kağıda damlatılarak kurutulur. Sonrasında bu kağıdı asit-bazlığı belirlenmek istenen

çözeltiye daldırarak çözeltinin pH'sına göre bir renk alır ve bu kağıt pH kağıdı olarak tanımlanabilmektedir (27).

4.6.1.2. Redoks İndikatörleri

Redoks indikatörleri, redoks titrasyonlarında indikatöre ihtiyaç duyulmasından dolayı keşfedilerek bilim dünyası açısından indikatörlere katkıda bulunulmuştur. Bunun nedeni olarak redoks titrasyonlarında eşdeğerlik noktası potasyum permanganat veya iyot çözeltilerinin kullanıldığı durumlarda gözle görülür bir şekilde saptanmasına rağmen seryum (IV) nitrat çözeltisi veya benzer renksiz ayarlı çözeltilerde eşdeğerlik noktasını gözle görülür bir şekilde saptamanın imkansız olması gösterilebilir. Aynı şekilde kullanılan çözeltiler seyreltik ise yine eşdeğerlik noktasında gözle görülür bir renk dönüşümü olmaz. Bu yüzden bu renk dönüşümünü görmek için yükseltgenmiş durumdaki renkleri ile indirgenmiş durumdaki renkleri farklı olan maddeler kullanılmaktadır. Redoks indikatörü olarak isimlendirilen bu maddeler asit karşısında, ayarlı çözeltinin aşırısında dayanıklı olmalı ve titrasyon ortamındaki diğer maddeler ile reaksiyon vermemesi gerekmektedir. Eşdeğerlik noktasına ulaşıldığı noktada ayarlı çözeltinin aşırısında redoks indikatörleri ayarlı çözeltiyle reaksiyon vererek indirgenirler veya yükseltgenirler ve yapılarındaki bu değişimle renk dönüşümüne neden oldukları gözlenmektedir. Buradaki renk değişimi her indikatör için karakteristik olan belirli bir redoks potansiyeli alanında oluşacağından bu alanı asit-baz indikatörlerindeki pH alanı ile karşılaştırabiliriz. Uygun redoks indikatörü seçilirken dikkat edilmesi gereken konu, titre edilen örnekteki maddenin redoks potansiyel alanına olabildiğince yakın bir alanda renk dönüşümü veren indikatörün seçilmesidir. Redoks titrasyonlarında genel olarak seçilen indikatörlere örnek olarak ferroin ve etoksikrisiodin verilebilmektedir. Ferroin, orto-fenantrolin hidroklorür ve demir(II) hekzamin kompleks yapısında bir madde olup kolay bir şekilde mavi renkli demir(III) kompleksi şekline dönüşebilmektedir. Bu reaksiyon mekanizması tersinir olacak biçimde yürümektedir.

4.6.1.3. Karışık İndikatörler

Bu tarz indikatörler genellikle dar bir pH aralığında çalışılmak istendiğinde tercih edilebilmekle beraber daha hassas sonuçlar almak amacıyla seçilen bu indikatörler, uygun iki indikatörün karıştırılarak birbirine çok yakın pH aralığında renk değiştiren bir karışım hazırlanarak elde edilen karışık indikatörler olup bunlara örnek olarak metilen

mavisi-metilen kırmızısı örneği verilebilir. Bu karışım, pH 5.45 ile 5.5 gibi dar bir alanda viyole renginden yeşile dönmektedir.

4.6.1.4. Çöktürme İndikatörleri

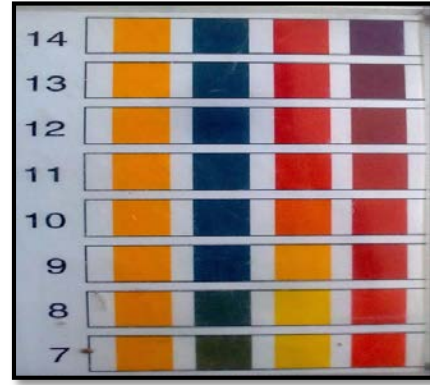
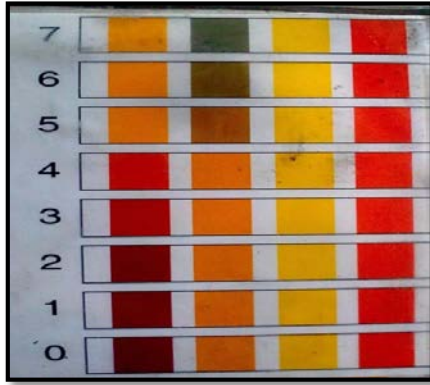
Bu tip indikatörler tuz oluşturarak çöktürme işlemini tamamlarlar. Bu özellikteki indikatörlerin kullanımında çözelti içerisine az miktarda iyon ilave edilir. Bu iyon eşdeğerlik noktasında çöktürücü reaktifin aşırısı ile renkli bir tuz oluşturarak işlem tamamlanır. Bu tip indikatörlere en güzel örnek olarak Mohr metodu ile Cl^- tayininde kullanılan potasyum kromattır (2).

4.7. Turnusol Kağıdı

Turnusol kağıdı kimyada kullanılan asit-baz ayıraçlardan bir tanesi olup asit ve bazları tanımlamada kullanılarak bilimsel çalışmalarda kolaylık sağlamaktadır. Turnusol, likenlerden elde edilen, içeriğinde orsein bulunan ve suda çözünen bir boya olarak tanımlanmıştır. Bu boya çözelti olarak veya bir filtre kağıdına emdirilerek maddelerin asitliğini veya bazlığını ayırt etmede kullanılan turnusol, filtre kağıdına emdirildiğinde bu kağıda pH belirteci denmektedir. Mavi turnusol kağıda asitle etkileştiğinde kırmızıya dönerken, kırmızı turnusol kağıdıda bazla etkileşerek mavi renge dönmektedir. Buradaki renk değişimi 4.3-8.3 pH aralığında menekşe tonlarında olmaktadır (25°C). Düşük pH'lardaki maddeler asit olarak değerlendirilirken yüksek pH değerleri baz olarak tanımlanmasının yanısıra bazı çözünen tuzlar da turnusol kağıdını mavi veya kırmızıya dönüştürmektedir. Kuvvetli asit ve zayıf bazdan oluşan tuzlar asidik olarak tanımlanırken, zayıf asit ve kuvvetli bazdan oluşan tuzlar ise bazik olduğu için turnusol kağıdının rengini değiştirmektedirler (1).

Turnusol kağıdını kullanarak nitel bir analiz yapabilirken dijital pH metreleri kullanarak nicel bir analiz de yapabiliriz. Dijital pH metreler sayesinde bir maddenin hem asit yada baz oluşu hemde pH değerini kolaylıkla öğrenmek mümkündür. pH'sı ölçülecek sıvıya pH metrenin sensörü batırılır ve ekrandan değer okunur. Bu durumun aksine kağıt pH metrelerle ölçüm farklıdır. Kağıt pH metreler içerisinde çok sayıda pH ölçü kağıdı olan bir kutucuk şeklinde olup üzerlerinde 4 farklı renkte kimyasal bulunmaktadır. Bu kimyasal indikatör görevi üstlenerek temas ettikleri sıvıyla seçicilik gösterirler. İndikatör kimyasallar herhangi bir sıvı ile temas ettiğinde renk değiştirirken

bu renk değişimlerine bakılarak pH ölçümü yapılmaktadır. Ölçüm yapılacak sıvı aşırı renklere sahipse ve renk kodlarını etkileyeceği düşüncesine kapıldığınızda sıvıya kağıdın arkasını değdirin yani kimyasal yüzey sıvıya batmayacak şekilde değdirip bu şekilde kimyasallar sıvıyı kağıttan emene kadar bekletilerek kağıttaki değişim rahatlıkla gözlenebilir. Aşağıdaki standart bir kağıt olup pH metrenin renk kodları verilmiştir (28).

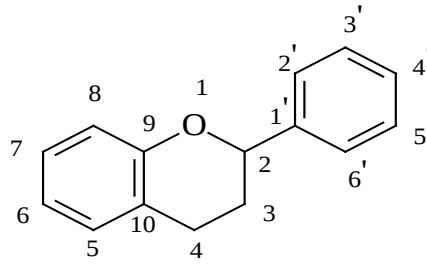


Resim 1. Standart pH kağıtları (pH 0-7)

Resim 2. Standart pH kağıtları (pH 7-14)

4.8. Flavonoidler

Flavonoidler damar bitkilerinin büyük bir kısmından izole edilmiş fenolik bileşikler olup 8150'den fazla flavonoid rapor edilmiştir (29). Flavonoidler polifenollerin doğal yollarla meydana gelen en büyük gruplarından biri olup antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere sahiptirler (30,31). Doğal olarak bitkilerin gövdelerinde, yapraklarında, kabuklarında, köklerinde ve özellikle çiçeklerinde bulunmaktadır (30,32,33). Flavonoidlerin temelini oluşturan “flavan çekirdeği” Şekil 10'da gösterilmiştir (29,30).

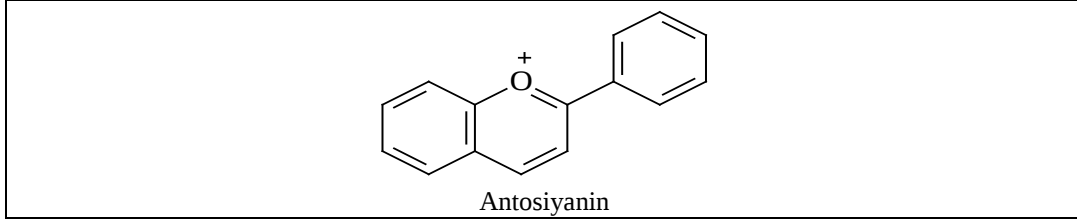


Şekil 10. Numara sistemi içeren basit bir flavonoid yapısı

Flavonoidler C6–C3–C6 difenilpropan yapısındadır ve fenil grupları arasındaki üçlü karbon köprüsü, oksijenle halka oluşturmaktadır. Değişik flavonoidler arasındaki farklar; bağlanan hidroksil gruplarının sayısından, doymamışlık derecesinden ve üçlü karbon segmentinin oksidasyon düzeyinden kaynaklandığını bilinmektedir (34). Bilinen flavonoid sınıflarından bazıları Tablo 1’de molekül yapılarıyla verilmiştir (29,35).

Tablo 1. Flavonoidlerin hetero halkadaki -C3- yapısına göre sınıflandırılması

Kalkon	Flavonon
Flavon	Flavonol
Flavonol	Dihidroalkon



4.9. Antosiyeninler

Antosiyenin kelime anlamı olarak incelendiğinde Yunan kökenli olup anthos (çiçek) ve kyanos (mavi) kelimelerinden oluşmuştur (36). Flavonoidlerin alt gruplarından biri olan bu bileşen çiçek ve meyvelerde bulunan ve kırmızıdan maviye değişen renk skalasını oluşturmaktadır (37,38). Doğada geçmişten günümüze kadar 500'ün üzerinde antosiyenin ve 23 tane antosiyanidin olduğu bilinmektedir (37,39).

Antosiyeninler birbirleri arasında farklılıklar göstermektedir. Bu farklılık moleküldeki hidroksil gruplarının metilasyon derecesi, moleküle bağlanmış şekerlerin türü, sayısı ve bağlanma şeklinden ötürü olmaktadır. Bunun yanında moleküldeki şekere bağlanan alifatik ve aromatik asitlerin yapısı ve sayısı da antosiyeninler kendi aralarında birbirinden farklı olmalarının nedenini açıklamaktadır (29,40).

Antosiyenin, E163 kodlu bir polifenolik bileşik olup suda çözünbilme özelliğine sahip bu renklendirici; böğürtlen, üzüm, erik, nar, mor havuç, ahududu, tatlı patates, siyah ve kırmızı kuş üzümü, kırmızı turp, kırmızı lahana, ağaç çileği, fransız fasülyesi gibi birçok meyve ve sebzeye kırmızıdan maviye kadar farklı renkler veren bileşen olarak bilinmektedir (36,41). Antosiyeninlerin içeriğindeki polifenoller sağlık için yararlı olup gıda katkı maddesi olarak kullanımlarına rastlanmaktadır (42,43). Gıda sektöründe gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılan antosiyeninler, kozmetik sektöründe de cilt bakım ürünlerinde ve saç bakım ürünlerinde kullanılarak bu sektöre de katkı sağlamaktadırlar (36). Antosiyeninler sahip olduğu renklerden dolayı polen ve çekirdeklerin yayılmasında rol oynadıklarından hayatımızda önemli bir yer teşkil etmektedirler (37,44).

Antosiyeninler, bitkiler aleminde suda çözünabilen en yaygın pigmentler olup renkleri yapıya ve meyvenin asitliğine de bağlıdır. Çoğu antosiyenin asidik koşulda kırmızı olurken düşük asitli koşulda ise maviye dönerek pH değişimlerine göre renginin

döndüğünü kanıtlar niteliktedir. Bu özelliklerinden dolayı antosiyaninler, asit-baz indikatörü olarak da kullanılmaktadır (29,45).

Yukarıda bahsedilen meyve ve sebzelerden görüldüğü gibi antosiyaninler kırmızı, mor renkli meyve ve sebzelerde bulunan yüksek antioksidan aktivite gösteren bileşenlerdir. Genel olarak siyah, mavi ve koyu kırmızı renkler içeren meyvelerin çok güçlü antioksidan etkileri olduğu bilinmektedir (46).

Flavilyum katyonu olarak da bilinen antosiyaninler; antioksidan, antikanser, antibakteriyal ve antiinflamatuvar gibi biyolojik etkilerinin yanında (29,47), gıda boyası, saç boyası ve son yıllarda güneş pillerinde hassaslaştırıcı olarak kullanılarak insan hayatını kolaylaştıran buluşlarda önemli bir rol oynamaktadır (29,48). Bunun sebebi olarak içeriğindeki polifenol bileşenleri, ısıya ve ışığa karşı stabilitelerinin yüksek oluşu gösterilebilirken bu özellikleri sayesinde ileride gıdalardaki antosiyaninlerin kullanımında artış olabileceği düşünülerek çalışmalara devam edilmektedir (36,42).

Antosiyaninler, neredeyse tüm bitki ailelerinde bulunur. Esas rengi veren başlıca antosiyaninlerden siyanidin; şeftali, kiraz, incir, erik, ahududu, frenküzümü, kırmızı lahanada bulunurken Malvidin bazı üzümelerde, Pelargonidin çilek, kırmızı turp, dutta; Peonidin bataklık kızılcığında ve Petunidin ise Amerikan üzümünde bulunmaktadır. Antosiyaninlerin ana kaynağı olarak böğürtlen, üzüm, yabanmersini gibi küçük sulu ve taneli meyveler, avakado, portakal ve patlıcan, zeytinler, kırmızı soğan ve tatlı patates gibi bazı sebzeler gösterilebilir. Tablo 2'de bazı bitkilerin antosiyanin içerikleri verilmiştir (29,49).

Tablo 2. Bazı bitkilerin antosiyanin içerikleri

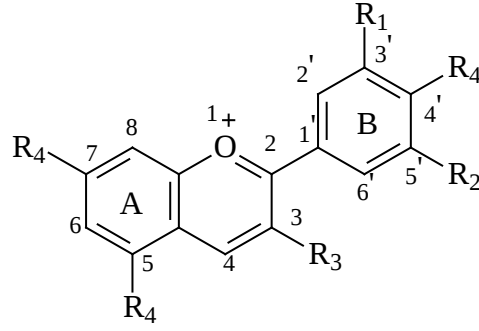
Gıda Maddesi	100 g Gıdadaki Antosiyaninin mg Cinsinden değeri
Patlıcan	750
Siyah Kuşüzümü	130-400
Böğürtlen	83-326
Çay Üzümleri	25-497
Kiraz	350-400

Kuş Kirazı	200-1000
Yabanmersini	60-200
Mürver Ağacının Meyvası	450
Portakal	200
Turp	11-60
Ahududu	10-60
Frenk Üzümlü	80-420
Kırmızı Üzümlü	30-750
Kırmızı Soğan	7-21
Kırmızı Şarap	24-35
Çilek	15-35

4.9.1. Antosiyaninlerin Yapısı

Antosiyaninler yapısal olarak incelendiğinde, C6-C3-C6 şeklinde temel yapı gösteren flavonoid grubu maddelerin bir alt grubuna dahil olup klasik antosiyanin aglikon C15 (C6-C3-C6) iskelet yapısı üzerine kurulmuştur. Antosiyanin aglikonu iki halka yapısından oluşmuş benzopiran fenil halkasına bağlanmıştır ve bunların yapılarında heterosiklik bir halka olan flavilyum katyonu bulunmaktadır. Flavilyum, yapısında pozitif yüklü oksijen olan bir oksonium iyonu olarak tanımlanmaktadır (29).

Kimyasal açıdan bakılarak incelendiğinde antosiyaninler, 2-fenilbenzopirilium'un (flavilyum katyonu) polihidroksi ve polimetoksi türevlerinin glikozitleridir (50). Antosiyaninler, elektron konjugasyonundan kaynaklı olarak görünür ışığı iyi absorbe ettiklerinden meyve ve sebzelerin kırmızıdan mora kadar değişen tipik renklerini vermektedir. Flavilyum katyonu (2-fenilbenzopirilyum) Şekil 11'de gösterilmektedir (29).



Şekil 11. Antosiyanin (flavilyum katyonu) (50,51)

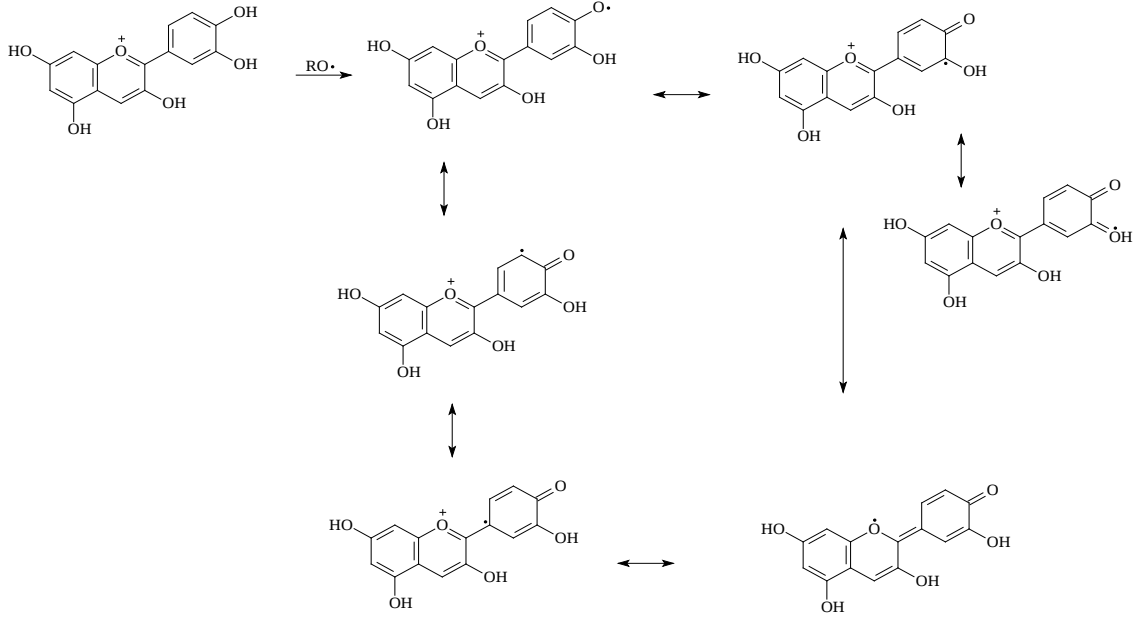
*R₁ ve R₂: H, OH veya OCH₃; R₃: bir glikozil veya H; R₄: OH veya bir glikozildir.

Antosiyaninler arasındaki farklar, moleküldeki hidroksil gruplarının sayısı, bu hidroksil gruplarının metilasyon derecesi, moleküle bağlanmış şekerlerin türü, sayısı ve bağlanma şekli ve bu şekerlere bağlanmış alifatik ve aromatik asitlerin yapı ve sayısı gibi faktörlerden kaynaklanmaktadır. Doğal antosiyanidinlerin (aglikonlar) bitkilerde en çok bulunanları; pelargonidin, siyanidin, peonidin, delfinidin, petunidin ve malvidindir (50-52).

Antosiyaninlerin kimyasal yapısının yanında renk değişimi üzerine etkili faktörlerden biri de ortamın pH derecesidir. Nitekim antosiyaninlerin çoğu, sulu ortamlarda pH indikatörü gibi davranmaktadırlar. Buna göre düşük pH derecesinde kırmızı, yüksek pH derecesinde mavi-mor tonda renk göstermekte olup ikisi arasında ise renksiz formda bulunmaktadırlar (50).

4.9.2. Antosiyaninlerin Antioksidan Aktiviteleri

Antosiyaninler doğada meyve ve sebzelere çekici rengi kazandırmanın yanında antioksidan özellikleriyle de dikkat çekmektedirler (29,53,54). Antosiyaninlerin antioksidan aktivitesi, metal iyonlarıyla şelat oluşturma ve protein bağlama özelliklerini temel olarak almaktadır (29,55). Antosiyaninlerin antioksidan aktiviteleri yapılarıyla yakından ilişkili olup yapıdaki -OH sayısının artışı, B halkasındaki o-hidroksi yapı, 3' ve 4' karbona -OH'lerin bağlanması antioksidan aktiviteyi arttırmaktadır (Şekil 12) (1,33). Yapıya katılan şeker sayısı farklılaştıkça antioksidan aktivite de değişmektedir. Ayrıca üç ve daha fazla şeker ilavesi antioksidan aktiviteyi azaltmaktadır (29,57,58).



Şekil 12. Antosiyanin radikallerinin rezonans yapıları (29)

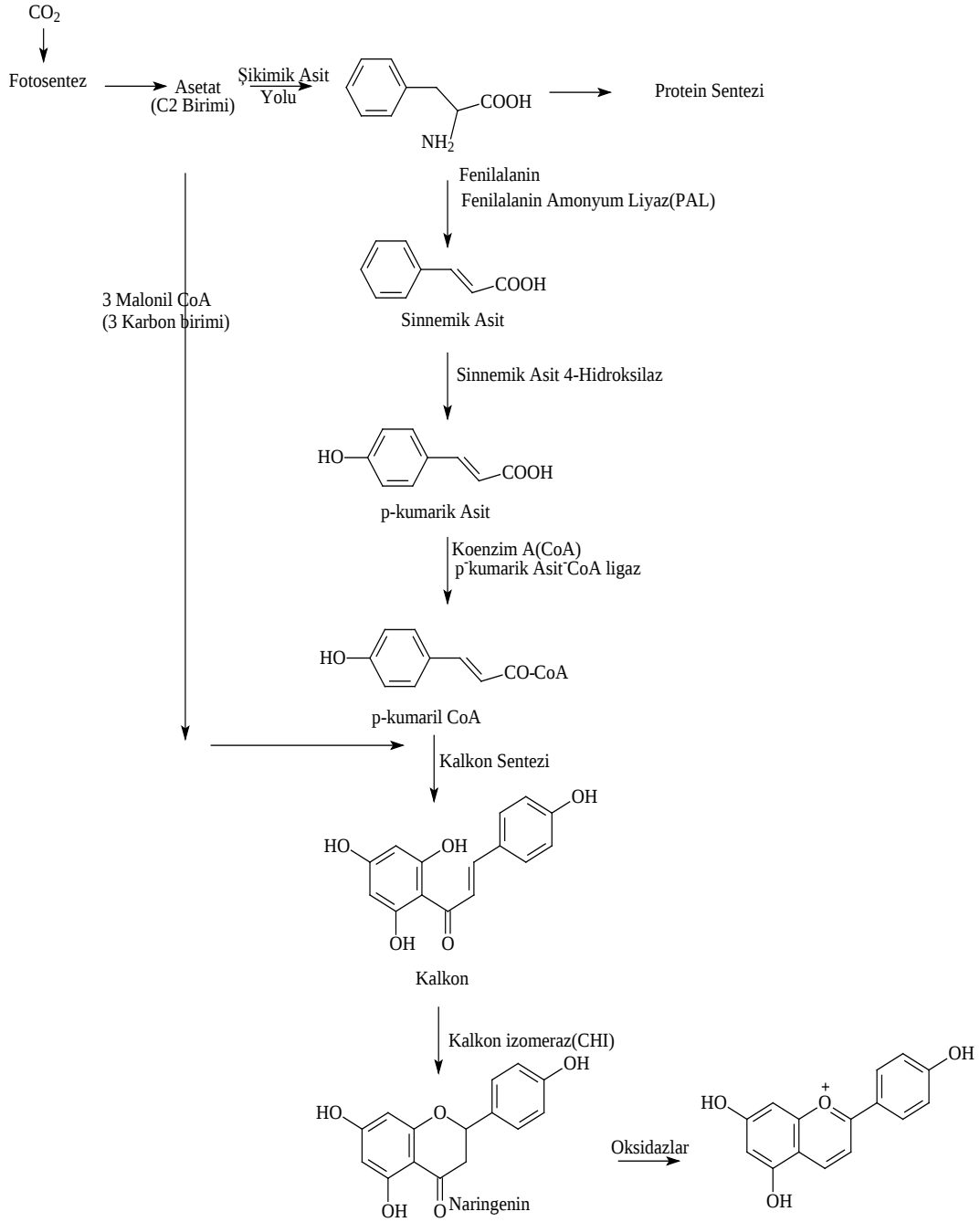
Yapılan birçok araştırmada, antosiyaninlerin antioksidatif etkilerinin bulunduğu saptanmıştır (50,59-61). Siyanidin ve siyanidin-3-glikozitin çeşitli sistemlerde antioksidatif aktivite gösterip bunun yanı sıra bazı sistemlerde α - tokoferolden daha fazla antioksidatif etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (50,59). Yine siyanidin, delfinidin, pelargonidin, malvidin ve peonidin çeşitli türevlerinden oluşan 14 farklı antosiyaninin antioksidant kapasitesinin araştırıldığı bir çalışmada, siyanidin-3-glikozitin en yüksek antioksidatif aktive gösterdiği ve bu aktivitenin bir E vitamini benzeri olan Troloks'a göre 3.5 kat yüksek olduğu bulunmuştur (50,60). Öteki taraftan, araştırılan bileşikler arasında en düşük antioksidatif aktivite gösteren pelargonidin-3,5-diglikozitin dahi Troloks'la eşit düzeyde bir aktiviteye sahip olduğu ifade edilmiştir (50,62).

Başka bir çalışmada ise sentetik 4-metil-7,8-dihidroksiflavilyum ilk kez elektrokimyasal olarak incelendi. Bu bileşiğin elektrokimyasal oksidasyonu dönüşümlü ve kare dalga voltametri kullanılarak incelendi ve ahudududa mevcut bir antosiyanin olan kuramanin ile karşılaştırıldı. Bu karşılaştırma yapılırken oksidasyon reaksiyonlarına göre antioksidan kapasiteleri karşılaştırıldı. Oksidasyon mekanizması, elde edilen voltametrik veriler ışığında açıklandı. Bu mekanizmaya göre oksidasyon reaksiyonu iki elektron iki proton tersinir sistemi birleştirilmiş bir homojen kimyasal

reaksiyon meydana gelmiştir. Sentetik ve doğal antosiyaninin benzer davranışlar gösterdiği bu ölçümde her iki molekülde de oksitlenebilir grup katekol kısmıdır. Ancak katekol kısmı kuramaninin B halkasında iken sentetik flavilyumda ise A halkasındadır. Sentetik flavilyumun A halkasındaki katekol, doğal antosiyaninin B halkasındaki katekol grubuna göre daha kolay oksidasyona uğramaktadır. Bu da sentetik antosiyaninin olası antioksidan aktivitesi ile ilişkilidir (63).

4.10. Antosiyaninlerin Biyosentezi

Antosiyaninler bitkilerin ikincil metabolitleri olarak bitkilerin fotosentezle oluşturdıkları ve hayatsal gereksinimleri için kullandıkları karbonhidratlar, aminoasitler gibi birincil metabolitlerden oluşmaktadırlar (29,64). Yükseltgenme, indirgenme, alkilasyon, açılasyon ve düzenlenme gibi ana iskelet üzerinde değişikliklerle oluşan antosiyaninlerin oluşum aşamaları Şekil 13'te verilmiştir (29,58,65).

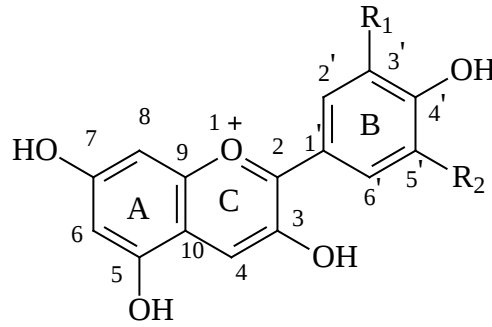


Şekil 13. Antosiyaninlerin biyosentezi (66,67)

Flavonoid biyosentezinde öncelikle 4-kumarat CoA ile 3 molekül malonil CoA birleşerek bu reaksiyonu kalkon sentetaz enziminin katalizlemesi sonucunda 2', 4', 6', 4-tetrahidroksilkalkon bileşiği meydana gelmektedir. Daha sonra kalkon naringenine izomerize olup naringeninde çeşitli antosiyaninlere dönüşerek antosiyanin oluşumu tamamlanmış olur (Şekil 13) (67,68).

4.11. Antosiyaninlerin Kimyasal Sentezi

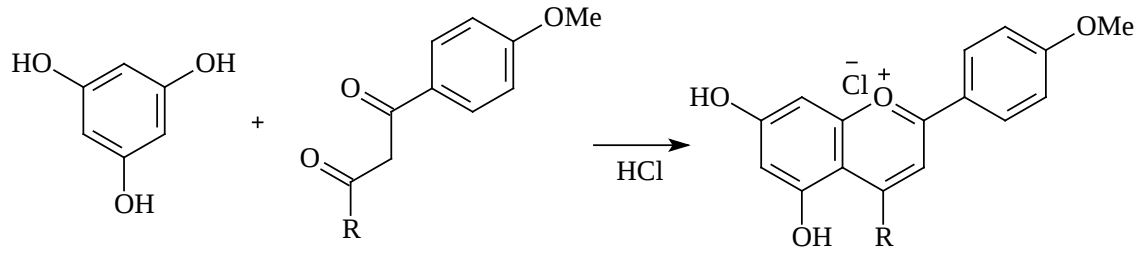
Antosiyaninlerin temelini oluşturan antosiyanidinler, oksijen içeren heterosiklik bir halka (C) ile birbirine bağlanmış çift karbon bağları bulunduran iki aromatik halkadan (A ve B) bir araya gelmesiyle meydana gelmektedir. Antosiyanidin molekülüne şekerler bağlandığında antosiyaninler oluşmasına rağmen antosiyaninlere şekerlerden başka organik ve fenolik asitlerde bağlanabilmektedir. Antosiyanin molekülüne bağlanan şekerler çoğunlukla ramnoz, galaktoz, ksiloz ve arabinoz olup şekerler genel olarak üçüncü karbon atomundaki hidroksil grubundan bağlanmaktadır. Şekil 14'te antosiyaninlerin numaralandırılma sistemi gösterilmiştir (67,69,70).



Şekil 14. Antosiyaninlerin numaralandırılma sistemi

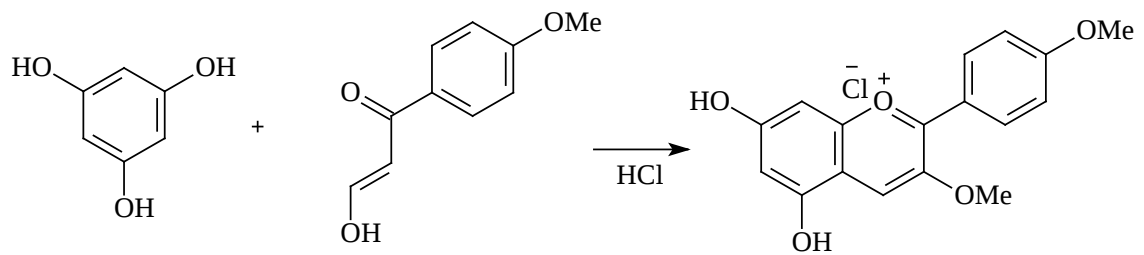
Antosiyaninler ve antosiyanidinler birkaç farklı yaklaşıma göre sentezlenerek antosiyaninlerin kimyasal olarak sentezine katkı sağlamıştır. Bu sentezleri aşağıdaki gibi sıralamak mümkündür (29).

1. Bulow ve Wagner



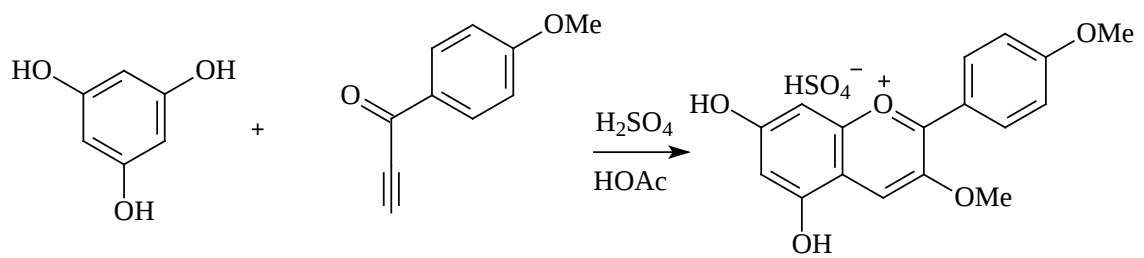
Denklem 1

2. Malkin ve Robinson



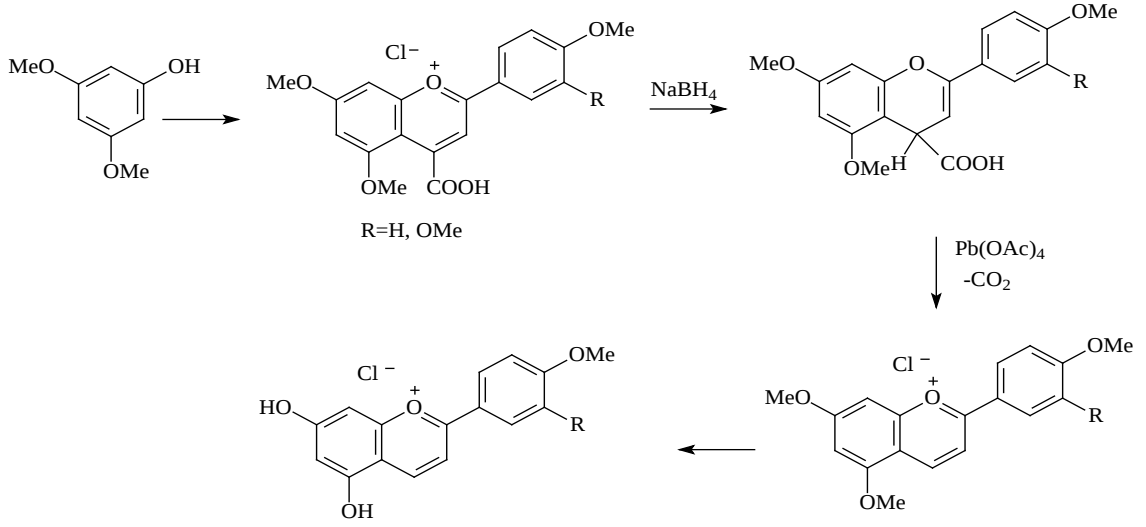
Denklem 2

3. Johnson ve Melhuish



Denklem 3

4. Sweeny ve Lacobucci



Denklem 4

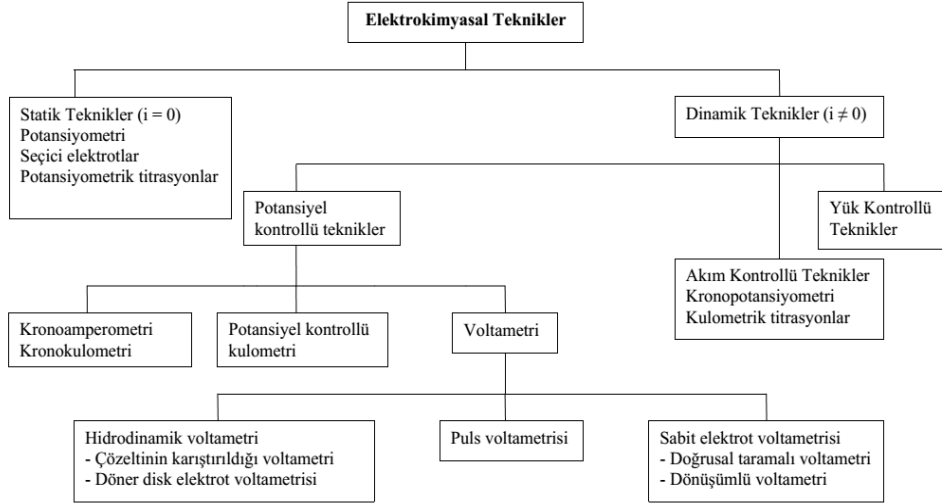
4.12. Elektrokimyasal Yöntemlerin Sınıflandırılması

Genel anlamda ifade edilirse, elektrokimya elektrik enerjisi üreten veya harcayan redoks (indirgenme-yükseltgenme) reaksiyonlarını inceler. Elektrokimya alanında yapılan kalitatif ve kantitatif çalışmalar çeşitli elektrokimyasal yöntemlerin geliştirilmesine olanak sağlayarak bilimsel anlamda ilerleme kaydedilmiştir.

Tüm elektrokimyasal metotlar, elektrot-çözelti sistemine bir elektriksel etki yaparak sistemin verdiği cevabın ölçülmesi temeline dayanmaktadır. Daha çok akım olarak ortaya çıkan bu cevap sistemin özellikleri hakkında bilgi verir. Ölçümler genel olarak iki elektrot ve bir elektrolit çözeltisi içeren elektrokimyasal hücrede gerçekleşmektedir. Elektrokimyasal yöntemlerin genelinde potansiyel, akım ve zaman parametreleri yer almakta olup bu parametrelere tekniğin isminde yer verilmektedir. Örneğin elektrokimyasal tekniklerden voltametri potansiyel-akım, kronoamperometri zaman-akım ve kronokulometri de zaman-yük parametrelerini ifade etmektedir (71).

Oldukça fazla sayıda elektrokimyasal teknik olup bunlar genel olarak net akımın sıfır olduğu denge durumundaki statik metotlar ve denge durumunda olmadığı andaki

net akımın gözlemlendiği dinamik metotlar olarak ikiye ayrılır. Dinamik metotlar genel olarak ya potansiyel ya da akım kontrollüdür. Elektrokimyasal yöntemlerin sınıflandırılması Şekil 15'te şema halinde verilmiştir.



Şekil 15. Elektrokimyasal yöntemlerin sınıflandırılması

4.12.1. Voltametri

Çekoslovak kimyacı Jaroslav Heyrovsky 1920 yılında voltametrinin özel bir tipi olan polarografi tekniğini geliştirilmiş ve bu buluşundan dolayı 1959 yılında Kimya Nobel Ödülü'nü kazanmıştır. Onun bu buluşu aynı zamanda yeni voltametrik analiz metotlarının bulunup geliştirilmesine neden olmuştur. Günümüzde voltametrik ve polarografik yöntemler inorganik kimya, fizikokimya, biyokimya, eczacılık alanlarında ve klinik çalışmalarda oldukça sık kullanılmaktadır. Bu sık kullanımın nedeni olarak numunelerin kısa sürede kolayca hazırlanabilmesi, analiz sürelerinin kısa olması, düşük derişimlerde farmasötik analizlerin yapılabilmesi, diğer yöntemlere göre daha ekonomik olmaları ve daha az numuneye ihtiyaç duymaları gösterilebilmektedir.

Voltametri; elektroaktif (elektrot tepkimesine giren) yükseltgenebilen ve/veya indirgenebilen organik ve inorganik bileşiklerin çözeltilerinden, uygun koşullarda elde edilen akım şiddeti-potansiyel eğrilerini, inceleyerek değerlendiren elektrokimyasal analiz tekniklerinin genel adıdır. Başka bir deyişle ile voltametri, elektrot potansiyelinin

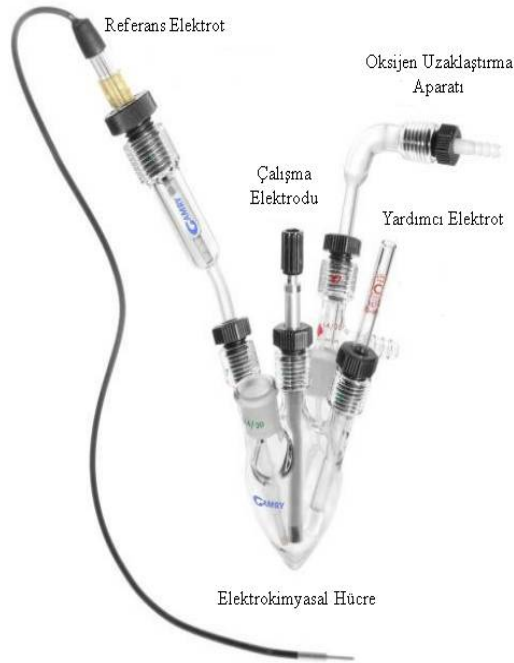
değiştirilmesi ile elektroanalitik hücreden geçen akımın değişmesine dayanan elektroanalitik metotları kapsamaktadır (72).

Voltametrik çalışmalarda elektrokimyasal hücrede bulunan, polarize olabilen bir çalışma (indikatör) elektrodunun potansiyeli zamanla değiştirilerek çalışma elektrodu ile referans (karşılaştırma) elektrodu arasında potansiyel uyarma sinyali uygulanır. Daha sonra üç elektrodlu sistemlerde çalışma elektrodu ile yardımcı (karşıt) elektrot arasındaki, iki elektrodlu sistemlerde ise çalışma elektrodu ile referans elektrodu arasındaki akım ölçülür. Voltametrde değiştirilebilir uyarma sinyalleri potansiyel-zaman fonksiyonları olup çalışma elektroduna değeri zamanla değişen potansiyellerin uygulanması ile oluşturulmaktadır. Akım ise çalışma elektrodu üzerinde maddelerin indirgenmesi ve/veya yükseltgenmesi sonucu oluşmaktadır. Uygulanan potansiyele karşı elde edilen akımın grafiğe geçirilmesi ile voltamogram elde edilir (73).

Voltametrik ölçümler, voltametrik hücre içerisinde gerçekleştirilmektedir. Bu işlemde; bir voltametrik hücre, analiti ve destek elektrolitin fazlasını içeren bir çözeltiye daldırılmış üç elektrodu içerir. Çözelti içerisindeki elektrotlar çalışma, referans ve yardımcı elektrotlardır. Akım, yardımcı ve çalışma elektrodu arasında akarken çalışma ve referans elektrotlar arasındaki voltaj kaydedilerek ölçüm gerçekleştirilmektedir (74).

Voltametrik bir ölçümün sağlıklı yapılabilmesi için destek elektrolit saf olmalıdır, çözünmüş oksijen geniş bir aralıkta indirgenme dalgaları verdiğiinden elektroinert bir gaz (He, N₂, CO₂) yardımı ile ortamdan uzaklaştırılmalıdır ve çalışmalar termostatik koşullarda yapılmalıdır. Bu durum, çalışmanın hassaslığı açısından oldukça önem teşkil etmektedir.

Hücre Kabı: Voltametrik analizler cam, kuvars veya teflon kaplarda yürütülmektedir. Bu yüzden voltametrik analiz çalışmalarında kullanılan kabın yapıldığı malzeme kirlenme ve adsorpsiyon özelliği en az olan ve ölçümler sırasında kullanılan çözücülerden etkilenmeyen maddeler arasından seçilerek kullanılmaktadır (75).



Şekil 16. Üç elektrot sistemi kullanılan elektrokimyasal hücre örneği

Çözücü ve Destek Elektrolit: Çalışmada kullanılan çözücüler yüksek saflıkta, analiti iyi çözen, analit ve ürünlerle reaksiyon vermeyen aynı zamanda elektrot ile de tepkimeye girmeyen çözücüler olması gerekmektedir. Voltametrik analizlerde su içermeyen diklorometan, dimetilformamid, dimetilsülfoksit ve metanol gibi çözücülerin yaygın olarak kullanımı mevcuttur.

Çalışma elektrodu üzerinde analitin redoks reaksiyonları verebilmesi için elektrot yüzeyine taşınması gerekmektedir. Analit elektrot yüzeyine bir elektrik alanı etkisi altında göç, karıştırma veya titreşim sebebi ile konveksiyon ve elektrot yüzeyindeki sıvı filmi ile ana çözelti arasındaki derişim farkından kaynaklanan difüzyon yolları ile taşınabilmektedir. Voltametrik bir çalışmada çözelti durgun olmalıdır ve hücrenin sallanması engellenmelidir. Böylece karıştırma veya titreşim sebebi ile konveksiyon yoluyla oluşacak bir göç ve bunun oluşturacağı akım engellenir. Voltametrik bir çalışmada analitin bir elektrik alanı etkisi altında göç ile elektrot yüzeyine taşınmasını

engellemek içinde ortama iyonik göçün tamamını üstlenecek yükseltgenme ve indirgenmesi güç olan alkali metal tuzları (KCl, KNO₃), anyonu ve katyonu kararlı olan iyonik bileşikler [(Et₄N)⁺(BF₄)⁻, (n-Bu)₄N⁺BF₄⁻, (n-Bu₄N)⁺PF₆⁻] destek elektrolit olarak çözeltiye fazla miktarda ilave edilerek göç sadece difüzyon yolu ile sağlanır ve elde edilen akımın difüzyon kontrollü olması sağlanır (76).

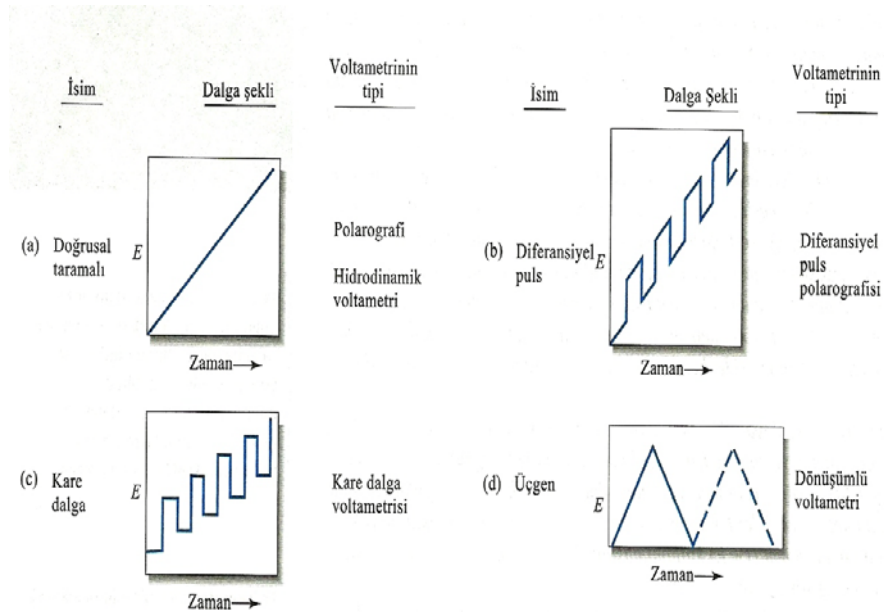
Çalışma Elektrodu (ÇE): Voltametrik analizlerde çalışma elektrotları olarak polarizasyonun daha kolay olması açısından yüzey alanları birkaç mm² den daha küçük olan mikroelektrotlar kullanılmaktadır. Çalışma elektrodu zamanla analit derişimindeki değışmelerle potansiyeli doğrusal olarak değışen elektrot olarak tanımlanır. Analit bu elektrot üzerinde indirgenir ve/veya yükseltgenir. Üç çeşit çalışma elektrodu vardır. Bunlar metalik (Pt, Au, ...), membran (cam elektrot, sıvı, kristalin, gaz duyarlı, ...) ve ISFET (iyon seçici alan etkili transistörler) elektrotlardır (77). Voltametrik tekniklerde çalışma elektrodu olarak en çok platin elektrot kullanılmaktadır. Bir çalışma elektrodunun genel özellikleri; iletken olmalı, çalışma aralığında inert olmalı, negatif potansiyel sınırı yüksek olmalı, kolay işlenebilir olmalı, şeklinde ifade edilebilir.

Referans Elektrot (RE): Voltametrik analiz esnasında potansiyeli sabit kalan ve elektrot potansiyeli tam olarak bilinen elektrottur. Bu elektrodu içeren devrenin direnci çok yüksek olduğu için buradan hiç akım geçmez ve böylece tüm akım yardımcı elektrottan çalışma elektroduna doğru akar. Referans elektrot olarak Ag/Ag⁺, Ag/AgCl elektrot, Hg/Hg₂Cl₂ (kalomel) elektrot, standart hidrojen elektrot (SHE) ve doygun kalomel elektrot (DKE) kullanılabilir (78). Bir referans elektrodunun genel özelliklerine değinecek olursak; potansiyeli sabit olmalı ve zamanla değışmemeli, potansiyeli sıcaklıktan etkilenmemeli, ufak bir akıma maruz kaldıktan sonra orjinal potansiyeline dönebilmeli ve tersinir olup Nerst eşitliğine uymalıdır.

Yardımcı Elektrot (YE): Helezon şeklinde sarılmış bir platin tel veya düz bir platin tel şeklinde olan elektriğin kaynaktan gelerek çalışma elektroduna aktarılmasını sağlayan elektrot olarak tanımlanır. Analiz sırasında yardımcı elektrodun potansiyeli ölçülmez ve aynı zamanda bilinmez. Yardımcı elektrot çalışma elektrodunu elektron yönünden beslerken çalışma elektrodu üzerindeki reaksiyona bir etkisi olmaz. Böylece yardımcı elektrot, akımın referans elektrodun potansiyelini etkilemesini engelleyeceğinden ölçümler sırasında referans elektrodun potansiyeli sabit kalır (79).

4.12.2. Voltametrik Yöntemler

Voltametrizde elektroda uygulanan değiştirilebilir 4 tip uyarma sinyali vardır. Bunlar doğrusal taramalı, diferansiyel puls, kare dalga ve üçgen (dönüşümlü) uyarma sinyalleridir.



Şekil 17. Voltametrizde kullanılan potansiyel uyarma sinyalleri (72)

4.12.2.1. Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV)

Voltametrik ölçümlerin hassasiyetini arttırmak amacıyla puls voltametri kullanılmaktadır. Faradik ve faradik olmayan akımların oranını büyük ölçüde değiştirerek 10^{-8} M altındaki konsantrasyonlarda dahi algılama olanağı sağlanmaktadır. Farklı puls teknikleri çoğunlukla akım veya potansiyeldeki kademeli değişimlere dayanmakta olup çalışma elektroduna belirli sürede ardışık olarak kademeli potansiyel değişimi uygulanmaktadır. Potansiyel anlık olarak belli bir adım arttırıldığında, faradik akım yavaş azalırken, faradik olmayan çalışma elektrodu yükleme akımı aniden üssel olarak azalacağı için puls süresince kaydedilen faradik akım faradik olmayan akımdan önemli derecede ayrılmış olmaktadır (80). Diferansiyel puls ve kare dalga voltametrisi

arasındaki en önemli fark olarak kullanılan potansiyel uyarma sinyalleri ve akım kaydetme yönlerinin farklı oluşu gösterilebilir.

Bir çok türün eser miktar tayininde yaygın olarak kullanılan diferansiyel puls voltametrisi yönteminin üstünlüğü, yarı dalga potansiyelleri 0.04 V ile 0.05 V kadar farklı olan maddeler için bile ayrı ayrı pik maksimumları elde edilmesidir. Diğer yöntemlerde böyle bir sonuç elde edilebilmesi için bu fark 0.2 V olmalıdır.

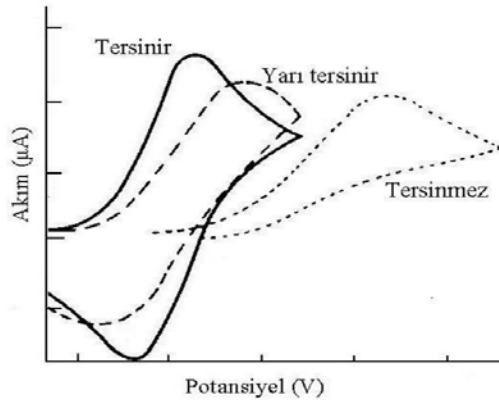
4.12.2.2. Dönüşümlü Voltametri (DV)

Araştırmacılar dönüşümlü voltametriden çeşitli komplekslerde ve organometalik bileşiklerde, ligandın ya da metal iyonunun yükseltgenme ve/veya indirgenme reaksiyonlarını aydınlatmak için yararlanmaktadırlar (81). DV redoks sistemlerinin mekanizmalarının incelenmesinde kullanılan en etkili yöntemdir ve DV tekniğinin avantajı, hem indirgenme hem de yükseltgenme olaylarının geniş bir potansiyel aralığında olup çok hızlı bir şekilde incelenmesine imkan vermesinden kaynaklanır. Elektron transferine eşlik eden kimyasal reaksiyonların varlığının tespitinde DV çok önemli bir metoddur. Genel olarak ilk mekanizma araştırmaları DV ile yapılmaktadır. DV ile mekanizma çalışmalarında mümkün olduğunca geniş potansiyel aralıklarında çalışılır (82).

Dönüşümlü voltametri, elektriksel olarak aktif bir madde içeren stabil bir çözelti içerisindeki mikro elektroda (çalışma elektrodu) doğrusal olarak belli bir potansiyel değerine kadar artan, daha sonra ise doğrusal olarak azalacak biçimde ters çevrilen bir potansiyel taraması uygulanması tekniği olarak ifade edilir. İleri ve geri yönde potansiyel tarama hızı genellikle aynıdır fakat istenildiği takdirde farklı tarama hızlarında da ölçümler alınabilir. Dönüşümlü voltametride en önemli parametreler, katodik pik potansiyeli (E_{pc}), anodik pik potansiyeli (E_{pa}), katodik pik akımı (I_{pc}) ve anodik pik akımı (I_{pa})'dır.

Dönüşümlü voltametride uyarma sinyali Şekil 17'de görüldüğü gibi üçgen dalga şeklinde olmaktadır. Üçgen dalga uygulanarak tarama yapıldığında Şekil 18'deki gibi tersinir, yarı tersinir ve tersinmez sistemlerin dönüşümlü voltamogramları elde edilebilmektedir. DV de elde edilen voltamogramlar spektroskopik ölçümlerde olduğu gibi incelenen maddenin bir kimliği durumundadır (83). Tersinir (geri dönüşümlü) bir

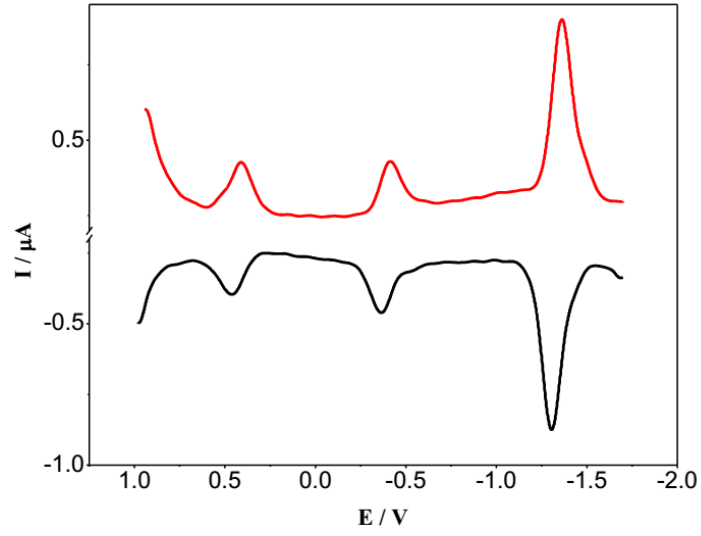
tepkimede, anodik potansiyel taraması sırasında bir yükseltgenme olduğunda, tarama tersine çevrildiğinde yükseltgenme sırasında oluşan ürünün elektrotta yeniden indirgenmesi söz konusu olup her iki tarama sırasında da pik görülür. Tersinir ve kimyasal reaksiyonların eşlik etmediği bir elektrokimyasal tepkimede anodik pik gerilimi (E_{pa}) ile katodik pik gerilimi (E_{pc}) arasında $59/n$ mV'luk bir gerilim farkı olmakta (n =aktarılan elektron sayısı) ve aynı zamanda anodik pik akımı (I_{pa}) ile katodik pik akımı (I_{pc}) şiddetleri birbirine eşit olmaktadır. Elektrot potansiyelinin tersinirliğinin azalması ile anodik ve katodik pikler birbirinden daha uzak potansiyellere kayarak yayvan olarak gözlemlenirler. Tersinmez (geri dönüşsüz) bir elektrot tepkimesinde ise anodik ve katodik pikler birbirlerinden çok uzaklaşacağından, birbirleri ile karşı karşıya gelmez (simetriklik tamamen kaybolmuştur) veya anodik pik tamamen kaybolur ve gözlemlenmez (84).



Şekil 18. Tersinir, yarı tersinir ve tersinmez sistemler için örnek DV voltamogramları

4.12.2.3. Kare Dalga Voltametri (KDV)

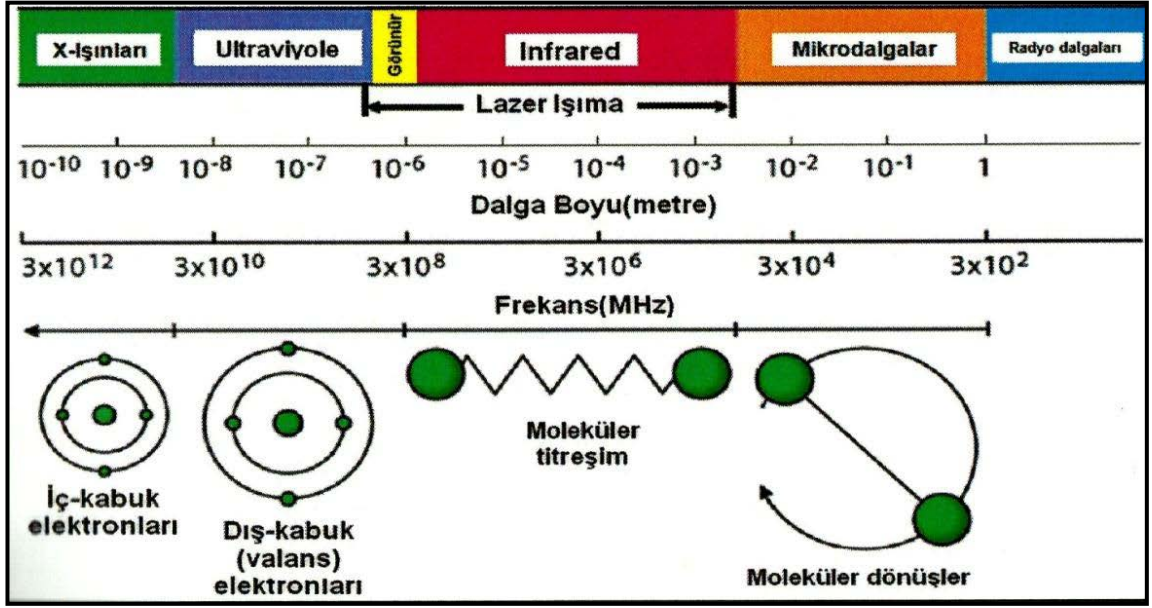
Kare dalga voltametrisi son derece hızlı ve duyarlı bir voltametri çeşidi olarak tanımlanır. Voltamogramın tamamı 10 ms'den daha kısa sürede elde edilir. Kare dalga voltametrisinde, asılı damla civa elektrodu ve kromatografik dedektörler de kullanılır. Damlayan civa elektrodu ile tarama yapılırken, yükleme akımı hemen hemen sabitken bir damla ömrünün son bir kaç saniyesi içinde uygulanır (80).



Şekil 19. Örnek bir kare dalga voltamogramı

4.13. Mikrodalga

Mikrodalga, elektrik ve manyetik alan bileşenleri içeren elektromanyetik bir dalga şeklinde tanımlanır. Bu yüzden elektromanyetik dalgaları sınıflandırırken, belirli bir frekans grubu mikrodalga bandını oluşturur. Elektromanyetik spektrumda infrared bölge ile radyo dalgaları arasındaki bölge mikrodalga bölgesidir. Bu bölge 1 mm ile 1m arasındaki dalga boyuna karşılık gelmektedir. Mikrodalgalar, ultraviyole, görünür ya da infrared ışık gibi diğer elektromanyetik dalgalardan daha düşük enerjiye sahip olup daha yüksek dalga boyuna sahip oldukları bilinmektedir. Mikrodalga, nükleer veya iyonize olmayan bir ışın şeklidir. Bu ışın TV, FM radyo dalgaları gibi elektromanyetik dalgalar şeklinde yayılan bir enerji olduğundan bütün elektrikli araçlar mikrodalga yaymaktadırlar (85,86).



Şekil 20. Elektromanyetik spektrumda yer alan bazı ışımaların madde üzerindeki etkileri (87,88)

Mikrodalga yöntemin kimyasal reaksiyonlarda kullanımı oldukça geniş bir alana yayılmıştır. Bunun nedeni olarak reaksiyonun hızı ve veriminin yüksek olması söylenebilir. Bunun yanında düzenli ve hızlı bir ısıtma sağlanmasıyla beraber reaksiyonların tekrarlanabilirliğini arttırması, çözücü kullanımını azaltması, çevreye zararsız ve temiz bir yöntem olması gibi avantajları da gösterilebilir. Ayrıca bu sebeplerden dolayı mikrodalga yöntemi gelişime açık ve ilgi çekici bir konu haline gelmiştir (88,89).

4.13.1. Mikrodalga Kimyasının Tarihçesi

19. yüzyılın başlarındayken Faraday, değişken manyetik alanın elektriksel alan yarattığını, değişken elektriksel alanın da manyetik alan yarattığını bularak günümüzdeki elektromanyetik dalga teorisinin temelini atmıştır. 1864 tarihinde Maxwell, 1877’de Rayleigh manyetik dalgalarla ilgili olarak çalışmalar yapmışlardır. Hertz ise kıvılcımlı bir jeneratör kullanarak dalga boyu 60 cm’ye kadar inen mikrodalgaları üretmiş ve bunların optik özelliğe sahip olduğunu ispatlayarak mikrodalganın ilerlemesine katkıda bulunmuştur.

İlk mikrodalga enerjiyi üreten elektrik tüpleri İngiltere’de 1940 yılında icat edildi. Mikrodalgaların ısıtma amacıyla kullanılabileceği fikri, 1946 yılında 2. Dünya Savaşı

sırasında askeri amaçlı radar araştırmaları yapan Dr. Spencer tarafından ortaya atıldı. (85,86,90).

1986 yılında ilk defa, Kanada Laurentian Üniversitesi'nde, Richard N. Gedye ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, karboksilik asitlerden, esterlerin, alkil benzen ve amitlerden karboksilik asitlerin ve alkil halojenürlerden eterlerin sentezinde mikrodalgaların klasik ısıtma yöntemlerine göre, binlerce kat reaksiyonları hızlandırdığı görüldü (86,91). Bu tarih itibariyle, mikrodalgaların kimyasal reaksiyonlarda ısıtma gayesiyle kullanımı hızla arttı ve birçok molekül bu yeni çalışma şartlarında daha yüksek verim ve kısa sürede yeniden sentezlendi. Laboratuvarlarda enerji gerektiren kimyasal reaksiyonlar için alevli ve elektrikli ısıtıcılar kullanılmaktadır. Böyle oluncada birçok reaksiyon, laboratuvar ve endüstriyel uygulamalarda saatler hatta günlerce devam etmektedir. Bu da istenmeyen bir durumdur. Fakat ısıtma için mikrodalga kullanıldığında, kimyasal reaksiyonlar çok kısa sürede tamamlanmaktadır. 1990'ların ortasından günümüze organik sentez amaçlı mikrodalga cihazların artması, güvenlik konularının çözümlenmesi ve çözücüsüz tekniğin gelişmesi ile mikrodalga yöntemi kullanılarak yapılan bilimsel yayınların sayısında önemli derecede artış görülmüştür (86,92).

Başarılı bir şekilde geliştirilen ticari mikrodalga cihazları, kimyasal reaksiyonların yanı sıra farmakoloji, petrokimya, biyoteknoloji ve polimer gibi değişik endüstriyel alanlarda da kullanılmaya başlanmıştır (86,89). Seçici, hızlı ısıtma sağlaması ve reaksiyon kabı ile enerji kaynağı arasında temas gerektirmeyişi, mikrodalga ışınlarını organik sentezler için daha kullanışlı hale getirmiştir (86,92). Mikrodalga ısıtmanın kullanıldığı birçok reaksiyonun çözücüsüz ortamda gerçekleşmesi, bu yöntemin bir çevre dostu olduğunu gösterdiği için "yeşil kimya" olarak adlandırılmaktadır (86,93).

4.13.2. Mikrodalga Teorisi

Genel olarak mikrodalga sistemleri incelendiğinde; bir mikrodalga kaynağı, mikrodalga ışınları kaynaktan uygulayıcıya ileten sinyal hattı bölümü ve enerjiyi materyallere iletecek olan mikrodalga uygulayıcısından oluşmaktadır. Mikrodalga uygulanabilmesi için bir maddenin dielektrik kaybına sahip olması gerekmektedir. Bunun anlamı değişken bir elektromanyetik alan uygulandığı anda, madde içinde

dipolar elektrik yüklerinin oluşması gerekir. Mikrodalga ışınlar gıdaların pişirilmesinde ve madde sentezinde kullanılmasının nedeni olarak üç karakteristik özellik sıralanabilir.

- Cam, kağıt, plastik özellikteki maddelerden geçebilmektedirler.
- Metallerce yansımaktadırlar.
- Gıdalar tarafından absorbe edilebilirler.

Mikrodalgalar ışık dalgaları gibi hareket ederek metallerden yansır, bazı dielektrik materyaller tarafından absorbe edilmektedirler. Bunun yanında bazı dielektrik materyallerden önemli bir absorpsiyon etkisinde kalmadan geçmektedirler. Mikrodalgalar elektronik devrelerde elektronların hızlandırılmaları ile elde edilir ve temas ettikleri madde ile etkileşime girerek saniyede milyonlarca kez oluşan bu hareket sonucu moleküler sürtünme ısısı açığa çıkarak madde ısınmaktadır. Mikrodalga ısıtma mekanizmasının temel dayanağı, polar moleküllerin veya iyonların bir manyetik alan veya elektriksel titreşim etkisi altında kalarak salınım hareketi yapmasıdır. Farklı maddelerin mikrodalga ışımaları farklı olduğu gibi tüm maddeler mikrodalga ısıtmaya uygun değildir. Mikrodalga kimyası sadece mikrodalga ışımasını absorbe eden maddelerle ilgilenmektedir. Bu özellikteki maddelerin mikrodalgaya karşı tepkileri farklı olduğundan aşağıdaki gibi üç farklı şekilde ifade edilebilirler (85,86,90).

- ❖ Mikrodalga yansıtıcı maddeler, metaller gibi iletken özellikte olup mikrodalga enerjisi yansıtımalarına rağmen ısınmazlar.
- ❖ Mikrodalga geçirgen maddeler, kükürt, teflon, kağıt, cam, plastik gibi yalıtkan maddeler olup mikrodalga ışınlarını geçirirler fakat ısınmazlar.
- ❖ Mikrodalga absorplayici maddeler, su gibi polar maddeler olup mikrodalga ışınlarını absorbe ederek hızlıca ısınırlar (86,94).

Mikrodalga enerjinin ısıya dönüşümü incelendiğinde bu durumun direk olarak maddenin polarlığıyla ilgili olduğu görülmektedir. Bundan dolayı mikrodalga ışımayla organik sentez reaksiyonları polar moleküllere sahip bileşiklerle gerçekleştirilmektedir.

4.13.3. Mikrodalga reaksiyonlarında Sıcaklık ve Zaman

Başarılı bir mikrodalga destekli sentez için en önemli nokta zamanın ve sıcaklığın en iyi şekilde birleştirilmesidir. Mikrodalgaya koyulan bir reaksiyon için sıcaklık ve zaman ilişkisi aşağıdaki gibi açıklanabilir;

- Reaksiyonun olmadığı durumlarda sıcaklık çok düşük ya da uygun olmayan reaksiyon sistemi olunca sıcaklık artırılır ya da çözücü değiştirilir.
- Dönüşümün eksik olduğu hallerde; reaksiyon süresi uzatılır ve/veya sıcaklık artırılır.
- Substratların bozulması durumunda ise; sıcaklık çok yüksek anlamında olduğu için sıcaklık düşürülerek bu duruma çözüm getirilir.
- Reaksiyon tamamlanmışsa; maksimum dönüşüme kadar sıcaklık azaltılır (86).

4.13.4. Mikrodalga Destekli Organik Sentezlerin Klasik Yöntemden Üstünlükleri

Organik sentezlerde kullanılan mikrodalga destekli ısıtma tekniği klasik ısıtma yöntemlerine göre pek çok avantaja sahiptir. Bunlardan bazıları aşağıdaki gibi özetlenebilir.

- Bilinen yöntemlerle saatlerce hatta günlerce süren reaksiyonlar mikrodalga yöntemi kullanılarak birkaç dakika içinde gerçekleşmesi sağlanmaktadır.
- Mikrodalga ısıtmada, mikrodalga enerjisi kimyasal reaktöre doğrudan ulaşarak direkt reaksiyon karışımı ısıtılır ve tamamen homojen bir ısıtma sağlanarak bölgesel ısınmayı önlemektedir.
- Klasik yöntemlerle karşılaştırıldığında daha saf ve daha yüksek verimde ürünler elde edilebilmektedir.
- Reaktiflerin oldukça hızlı bir şekilde ısınmalarını sağlayarak önemli miktarda vakitten ve enerjiden tasarruf sağlamaktadır.
- Mikrodalgayla bileşikler doğrudan ısıtıldığından kimyasal reaksiyonlarda kullanılan çözücü miktarı azaltılır veya hiç kullanılmaz (86,95-97).

- Basınçlı sistemler olması halinde sıcaklığın hızlı bir şekilde klasik yöntemde kullanılan çözücünün kaynama noktasından daha yüksek bir sıcaklığa ulaşılması mümkün olmaktadır (85,86,90).
- Organik reaksiyonlar için geliştirilmiş cihazlarda sıcaklık ve basınç gibi reaksiyon şartları düzenli olarak takip edilebildiğinden reaksiyonların tekrarlanabilirliğinde artış görülmektedir.
- Çok bileşenli sentezlerde mikrodalga kullanımı önemli bir yere sahip olup tek basamakta birden çok ürün elde edilmesiyle özellikle sentetik ilaçların geliştirilmesinde oldukça büyük yararlar elde edilebilmektedir (86,98,99).

4.14. Spektroskopi

Madde ile elektromagnetik dalganın etkileşimini inceleyen bilim dalına spektroskopi denir. Spektroskopi en çok bilinen hali ile maddenin özelliklerini, soğurulan ve salınan parçacıklar, ışık veya ses aracılığı ile incelenmesi olarak tanımlanabilir. Tüm bunların yanında ışık ile maddenin etkileşiminin incelenmesi olarak da tanımlanabilir (88).

Maddeye enerji uygulandığında; soğurulabilir, dışarıya verilebilir, kimyasal değişime yol açabilir ya da maddeden geçip gidebilmektedir. Işın enerjisinin soğrulduğu dalga boyları bileşiğin yapısına ve özelliklerine bağlı olduğundan spektroskopi teknikleri, bilinmeyen bileşiklerin yapılarının saptanmasında ve bilinen bileşiklerin bağlanma özelliklerinin incelenmesinde kullanılmaktadır.

Spektrum tanım olarak molekülün ışın absorpsiyonunun grafiksel gösterimi şeklinde ifade edilebilir. Spektroskopik ölçümlerden elde edilen spektrumların yorumlanmasıyla atomik ve moleküler enerji seviyeleri ile bu seviyelerdeki davranışları, geometri ve kimyasal bağlanma hakkında oldukça önemli bilgiler elde edilebilir. Genellikle yapı aydınlatılmasında kullanılan spektroskopi çeşitleri IR, UV, MS ve NMR spektroskopisidir. Her yöntem birbirini tamamlayan ve moleküler yapının belirlenmesinde yararlı olan bilgiler sağlayarak yapı aydınlatmasında önemli rol oynamaktadır. (86,100-103).

İnfrared spektroskopisi (IR), molekülde değişik fonksiyonel grupların bulunup bulunmadığını belirlemede kullanılan bir spektroskopi dalı olup dalga boyu 2500-25000

nm arasında olan ışınlar kullanılmaktadır. IR spektroskopisinde, bileşik üzerine gönderilen IR ışınları, bileşikteki atom ve atom gruplarının uyarılmasına ve bağlı oldukları kovalent bağlar etrafında artan genlikte titreşimlere neden olur. Bağ türlerindeki farklılık nedeniyle infrared ışınını farklı dalga boylarında soğurduklarından, bileşikte bulunan fonksiyonel gruplara ve bu grupları oluşturan bağlara göre bu titreşimler farklılık göstereceğinden spektrumun farklı bölgelerinde pikler verirler. IR spektroskopisi ile bileşikteki bağ türleri, fonksiyonel gruplar ve bağlanmalar hakkında bilgi edinilerek yorumlamalar daha iyi yapılabilir (86,88,104-107). Bir infrared spektrumu % geçirgenlik veya absorbansa karşılık dalga sayısı (cm^{-1}) grafiğe geçirilerek elde edilmektedir (102,108).

UV spektroskopisinde, bileşik üzerine gönderilen UV ışınları elektronik geçişlere neden olur. Bu elektronik geçişler bağlanma yapıları hakkında bilgi verir. Uyarılan elektronlar düşük enerjili orbital düzeyinden yüksek enerjili orbitallere geçerler. Bileşiklerin enerji düzeylerinin, dönme ve titreşim gibi alt düzeylere de ayrılması, farklı dalga boylarında soğurmalar ve çok sayıda farklı enerji düzeyi geçişlerini mümkün kıldığı için spektrumlar genişlemiş bantlar halinde elde edilmektedir (86,104-107). Elektronik geçişler anındaki absorblanan ışın miktarı ölçülerek, absorbansa (A) karşı dalga boyu (λ) grafiğe geçirilerek bir spektrum elde edilir (88,101).

Gaz haline getirilmiş bileşik üzerine, bileşiğin ilk iyonlaşma potansiyelini aşmaya yetecek yüksek enerjili elektron demetleri gönderilerek pozitif yüklü parçacıklar meydana getirilir ve bu parçacıkların kütle/yük oranlarına göre ayrılmaları, belirlenmeleri ve bunlardan yararlanarak numunenin teşhis edilmesi üzerine kurulmuş olan metotlar topluluğuna kütle spektroskopisi denir. Bu bağlamda adı geçen numuneye göre ortamda çok sayıda pozitif yüklü tanecikler bulunabilmektedir. Ortamda bulunan taneciklerin her biri m/e^+ oranlarına göre verdikleri piklere göre spektrumları oluşturarak bu spektrumlardan bileşiğin kütlesi tespit edilebildiği gibi, bileşiğin iskeletine ve fonksiyonel gruplarına bağlı olarak oluşan parçacıkların kütleleri temel alınarak bileşiğin yapısı da tahmin edilebilmektedir (88,91,98).

NMR spektroskopisi organik moleküllerdeki belirli çekirdeklerin (özellikle ^1H ve ^{13}C) kuvvetli bir magnetik alandayken radyo dalgalarını soğurması prensibine dayanan bir metottur. Bu soğurmanın sonucu olarak spinlerde meydana gelen değişimlerin

ölçümü de spektrumları oluşturmaktadır. Bileşikteki hidrojen ve karbon atomlarının sayısı, türü, bağlanma şekilleri, birbirleri ile olan etkileşimleri, komşuluk durumları gibi geniş bir alanda bilgi veren ve bileşiklerin yapısını net bir şekilde aydınlatmamızı sağlayan önemli bir spektroskopik yöntem olarak bilinen NMR spektroskopisinin 1D (bir boyutlu) ve 2D (iki boyutlu) olmak üzere iki farklı tekniği vardır (86,88,104-108).

4.15. Kromatografi

Kromatografi, bir karışımı oluşturan maddelerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinden faydalanılarak bileşenlerin sabit bir faz üzerinden hareketli bir faz yardımıyla, değişik hızlarla hareket etmeleri prensibinden faydalanarak gerçekleştirilen bir ayırma ve saflaştırma tekniği olup ayırmada etkin olan maddelerine göre adsorbsiyon, iyon değiştirme, dağılma ve jel kromatografisi olarak sınıflandırılabilir. Hareketli ve sabit fazın özelliğine göre ince tabaka, kolon, gaz ve kağıt kromatografisi olarak sınıflandırılabilen olup sabit faz olarak genellikle silikajel, kalsiyum karbonat, alüminyum oksit, selüloz gibi maddeler iken hareketli faz olarak ise çözücüler, çözücü karışımları ve azot, helyum gibi inert taşıyıcı gazlar kullanılmaktadır (86,88,101,108).

4.16. Antimikrobiyal Maddelerin Genel Özellikleri

Geçmişten günümüze kadar hastalıklar birbirinden farklı yöntemlerle tedavi edilmektedir. Tedavi etmek amacıyla hem değişik bitkiler hem de laboratuvar ortamında sentezlenen maddeler kullanılmaktadır. Sentezlenen bu maddelerin öncelikle farklı canlılarda denenmesi ve daha sonra ilaç haline getirilmesi gerekmektedir. 20. yüzyılın başlarına kadar insan organizmasına zarar vermeden mikroorganizmaları etkilemenin imkansız olduğu düşünülürken 20. yüzyıldan itibaren mikroorganizmalar hakkında bilgiler arttıkça bulaşıcı hastalıklarla mücadele de bilinçli olarak sürdürülmüştür (108,109).

Antimikrobiyallerin tarihi, Pasteur ve Joubert' in bir bakterinin diğerinin gelişimini engellediğini buldukları araştırmalar ile başlamış olup günümüze kadar gerek doğal olarak gerekse de sentetik yolla bir çok antimikrobiyal madde elde edilmiştir. Buna rağmen mikroorganizmaların antimikrobiyallere karşı hızlı bir biçimde direnç geliştirmesiyle bu konuda yapılan araştırmaların derinleştirilmesini ve yeni bileşikler

bulunmasını zorunlu hale getirmiştir. Daha önceki antimikrobiyal teknolojisi mikroorganizmaları tamamen öldürmeyen zehirlere ve ağır metallere dayalı olup mikroorganizmaların değişim geçirerek direnç kazanmasına neden olmaktaydı. Günümüze gelindiğinde ise mikroorganizmaların direnç kazanmalarını engellenmeye yönelik çalışmalar yapılmaktadır (86).

Antimikrobiyaller, bakteri, mantar ve virüs gibi organizmalar üzerinde öldürücü veya gelişimini engelleyici bir biçimde etki gösterip sebep oldukları zararlı etkileri ortadan kaldırmak amacıyla kullanılan maddelerdir. Mikroorganizmalar antimikrobiyallere karşı çok farklı biçimde duyarlılık göstermektedirler. Antimikrobiyallerin yapısına ve mikroorganizmaların türüne göre antimikrobiyallerin etkinliği değişebilir (86,88).

Antimikrobiyal bileşiklerin en önemli özelliği seçici toksisite olup kullanılan antimikrobiyal bileşikler çok düşük konsantrasyonlarda dahi etkili olarak insanda hiç toksisite göstermemeli veya çok az bir toksisite oluşturması beklenmektedir. Antimikrobiyal bileşiğin bu şekildeki bir etkisinin ortaya çıkarılabilmesi amacıyla öncelikle mikroorganizmalara karşı etkisi kültürlerle araştırılmalıdır. Antimikrobiyal özelliklerin belirlenmesinde bakteriler ve maya benzeri mantarlar kullanılabilir. Bakterilerde bulunan ve memelilerde bulunmayan bir molekülü hedefleyen antimikrobiyal bileşikler (sefalosporinler, sülfonamidler gibi) yüksek derecede seçici toksisiteye sahip olmalarına rağmen mantarlar memeli hücrelerine benzedikleri için antimikrobiyal bileşiklerin seçici toksisitesinden söz edilemez.

4.17. Antioksidan Aktivite

Bazı organik bileşikler havanın oksijeni ile çok yavaş bir şekilde reaksiyona girerek hidroperoksitleri vererek ara basamaklarında serbest radikallerin oluştuğu bu oksidasyon işlemine otooksidasyon denir. Antioksidanlar, otooksidasyon sırasında oluşan serbest radikallerle reaksiyona girerek onları zinciri sürdüremeyecek kararlı bileşiklere dönüştürerek otooksidasyonu önlerler (108,109).

Serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek amacıyla organizmada antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir. Antioksidan, oksit giderici her türlü kimyasal maddeye verilen isim olarak tanımlanır. Serbest radikaller, vücudumuz oksijen

kullanırken meydana gelen atık maddeler olup bu maddeler yüksek oranda tahrip edici özelliğe sahiptirler. Serbest radikaller temas ettikleri moleküllerin yapısını bozucu etki göstererek organizmaya zarar verirler.

Vücut dokularındaki bazı kimyasal reaksiyonlar, belirli koşullarda serbest radikal molekülleri üretir, metabolik sorunlara neden olur ve dokularda hasar meydana getirmede rol oynar (86). Oksijenlerin bu serbest radikallerle ortaya çıkardığı zararlı bileşikler çok hızlı bir biçimde hücre bileşenleriyle reaksiyona girerek canlı hücrede hasar neden olabilecek hidrojen peroksit, süperoksit ve singlet oksijen gibi moleküller oluşturmaktadırlar. Serbest radikal moleküller ile antioksidanlar bağ yaparak bunları kararlı hale getirirler. Böyle bir yapılanma ile serbest radikal molekülleri hücre yapılarına zarar veremez hale gelir. Antioksidanlar bu özelliklerinden dolayı hücrelerde normal olmayan şartların gelişmesini ve sonuç olarak tümör oluşturma risklerini azaltmalarının yanında, daha sağlıklı ve yaşlılık sorunlarının minimum olduğu bir hayat yaşama olasılığını güçlendirir (88).

Vücutta serbest radikallere karşı oluşan, doğal antioksidan savunma sistemleri arasında süperoksit dismutaz (sod), katalaz, hidroksi radikaller, glutatyon peroksidaz, bazı lipit peroksitler, hipoklorit radikaller, nitrik oksit gösterilebilir. Bunun yanında E vitamini (α - tokoferol), C vitamini, β -karoten, flavanoidler, koenzim Q ve A vitamini de savunmada yardımcı görev üstlenmektedir. Demir taşıyıcı protein olan transferrin, laktoferrin plazma ve diğer vücut sıvılarında demiri bağlayarak oksidatif hasarı önlemekte antioksidan gibi davranarak serbest radikallerin yol açtığını hasarı önlemektedir.

Antioksidanlar yalnızca biyolojik sistemlerde kullanılmazlar. Kimyasal işlemlerde ve endüstride kullanılmakta olan birçok farklı antioksidan vardır. Gıda maddelerinin üretimi, depolanması, taşınması ve pazarlanması esnasında meydana gelebilecek otooksidasyon kaynaklı zararları önlemede antioksidanlar katkı maddeleri olarak kullanılmaktadır (86).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Kullanılan Maddeler

Dietileter, metanol, etil asetat gibi çözücüler Sigma Aldrich HPLC grade saflıkta kullanıldı. Sentez için kullanılan 2-hidroksi benzaldehit, 4-hidroksiasetofenon, HBr ve CH_3COOH Sigma Aldrich marka olup analitik saflıktadır. Elektrokimyasal ölçümlerde diklorometan (DCM), tetrabutylamonyumperklorat (TBAP) Sigma Aldrich marka olup analitik saflıktadır. Asit-baz çözeltilerini hazırlamada kullanılan H_2SO_4 , NaOH merck marka olup analitik saflıktadır ve çözelti hazırlamada kullanılan ultra saf su laboratuvarımızda bulunan Ultra Saf Su cihazıyla elde edildi. Yıkama ve temizlik işlerinde saf su ve Tekkim marka aseton kullanıldı.

5.2. Kullanılan Cihazlar

Bu tez çalışması boyunca kullanılan cihazlar ve ne amaçla kullanıldıkları aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. Kullanılan cihazlar ve kullanım amaçları

Adı/Modeli	Kullanım Amacı
400 MHz NMR, Bruker	Ürünlerin yapı aydınlatmalarında kullanıldı.
Mikrodalga, Milestone, Star S	ANT Bromür bileşiğinin sentezi gerçekleştirildi.
LC-MS/MS, MicroMass, waters	Ürünlerin kütle spektrumlarının alınmasında kullanıldı.
UV-VIS Spektrofotometre, Thermo	Ürünlerin uv-vis spektrumlarının alınmasında ve spektrofotometrik biyoaktivite tayinlerinde kullanıldı.
Spektrofotometre Molecular Devices, SpectraMax M2	Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında, her bir ortam içindeki mikrobiyal büyümenin ölçümünde kullanıldı.
FT-IR, Shimadzu	Fonksiyonel grupların tanısı yapıldı.
UV Lamba, Camag	Maddenin saf olup olmadığı kontrol edildi.
Por 3 Kroze	Süzme işlemi için kullanıldı.
Liyafilizatör, Christ	Süzülen maddeyi kurutma işlemi için kullanıldı.
pH metre, Hanna HI2211 model (Romanya)	pH ölçümü yapıldı.
Isıtıcı manyetik karıştırıcı, Heidolph MR Hei Standart model (Almanya)	Çözeltilerin hazırlanması aşamasında homojen bir karışım elde etmek amacıyla kullanıldı.
Mikser, Lorentzen & Wettres Disintegrator	Selüloz tabakaları açıldı ve süspansiyon hazırlama işlemi yapıldı.

Seyreltme mikseri, Karl Frank GMBH (FRANK)	Süspansiyonu olabildiğince homojen hale getirmek için kullanıldı.
Kağıt makinesi, Rapid Köthen Hand made sheet former	Kağıt üretiminde kullanıldı.
Voltametik analizör cihazı, Gamry Interface 1000 Potansiyostat/Galvanostat	Dönüştürümlü voltametri (DV) ve kare dalga voltametri (KDV) ölçümleri yapıldı.
Vorteks Karıştırıcı, Isolab	Antioksidan aktivite çalışmalarında tüplerin içindeki çözeltinin homojen karışmasında kullanıldı.
Etüv, MMM Group	Antimikrobiyal aktivite için bakteri üretilmesinde kullanıldı.
Analitik Terazi, Ohaus PA214C model (U.S.A.)	Çözeltilerin hazırlanması aşamasında katı maddelerin analitik hassasiyette tartılmasında kullanıldı.
Ultrasonik Banyo, Sonica 3300MH model (İtalya)	Çözeltilerin karıştırılmasında ve cam malzemelerin temizliğinde kullanıldı.
Saf su (Sartorius marka Arium 61316 model)/Ultra Saf su Cihazı (Sartorius marka Arium proUV model)	Çözelti hazırlamada ultra saf su, yıkama ve temizlik işlemlerinde saf su kullanıldı.

5.3. ANT Bromür Bileşiğinin Sentezi

ANT Bromür bileşiği olarak isimlendirdiğimiz boyar madde mikrodalga yöntemiyle sentezlendi. Başlangıçta mikrodalga yöntemine göre hedeflenen bileşiğin sentezi için optimizasyonu yapıldı ve istenilen sentez gerçekleştirildi. 2-hidroksi benzaldehit ve 4-hidroksiasetofenon bileşiklerinin bulunduğu ortama HBr eklenerek asidik ortamda mikrodalga ile dört dakikada sentezlendi. Reaksiyon sonucu oluşan ürün ince tabaka kromatografisinde normal faz silikajel 60 F₂₅₄ kaplı alüminyum plakalar kullanılarak kontrol edildi. Kontrol etmek için 254 ve 366 nm dalga boyuna sahip kabinli UV lamba kullanıldı. Saf olduğu gözlemlenen ürün Por 3 krozedden süzüldü. Katı olarak elde edilen ürün başka saflaştırma işlemine maruz bırakılmadan liyofilizatörde kurutuldu.

5.4. ANT Bromür Bileşiğinin İndikatör Özelliğinin İncelenmesi

Sentezlenen ANT Bromür bileşiğinin çözeltisi hazırlanarak pH metrede ilk pH'sı ölçüldü. Daha sonra çözeltiye asit ve baz çözeltilerinden damlatıldığında çözeltinin renginin pH değişimine göre farklı bir renge dönüşüp dönüşmediği belirlendi. Bu sebeple öncelikle pH'ı 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.01, 8.0, 9.0, 10.0 olan 1 M'lık asit-

baz çözeltileri hazırlandı. Daha sonra pH'ı 4.0, 5.0, 6.02, 7.01, 8.01, 9.01 ve 10.02 olan 3 M'luk asit-baz çözeltileri hazırlandı.

5.5. Adi Süzgeç Kağıdına Boyar Madde Emdirilmesi İşlemi

1000 ppm'lik boyar madde çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltinin pH'sı 7'ye ayarlandı. Daha sonra bu çözelti içine adi süzgeç kağıtları konuldu ve bir süreliğine boyar maddenin kağıtlara tutunması sağlandı. Tutunma işlemi tamamlandıktan sonra kağıtlar kurumaya bırakıldı. Kuruyan adi süzgeç kağıtları, ayrı ayrı beherlere konulan farklı pH'lardaki 1 M'luk asit baz çözeltilerine batırıldı. Aynı şekilde önceden satın alınan pH kağıtları da çözeltilere batırıldı. Bu şekilde pH değişimine göre pH kağıtlarındaki renk değişimi ile, boya emdirilmiş adi süzgeç kağıdındaki renk değişimi karşılaştırıldı. Aynı şekilde artan derişimle pH değişimleri daha iyi gözlenebilir mi diye 3 M'luk farklı pH'lardaki asit-baz çözeltileri içinde aynı aşamalar tekrarlandı.

5.6. ANT Bromür Bileşiği Kullanılarak pH Kağıdı Üretimi

Kağıt üretimi için ise selülozik tabaka üzerinden kağıt üretme işlemi yapıldı. Bu işlem sırasında elde edilen her bir kağıdın 2 gram lif içermesi sağlandı. Tartımı yapılan parçalara bölünmüş selülozik tabakalar yeterli miktarda su ile mikserle konularak ve süspansiyon hazırlama işlemi başlatıldı. Daha sonra kağıdın ağırlığının %1, %3, %5 ve %7 si kadar boya çözeltisi hazırlanarak önceden hazırlanan süspansiyonun içine döküldü ve bu karışım seyreltme mikserine döküldü. Seyreltme işleminin bitiminde karışım alınarak kağıt üretme makinesindeki hazneye döküldü. Son olarak üretilen kağıt, aynı makinede kurutma işlemine tabii tutuldu. Böylece T 205 sp-02 standardına göre kağıt üretimi tamamlanmış oldu (110).

5.7. Elektrokimyasal Ölçümler

5.7.1. Elektrokimyasal Ölçüm Parametreleri

Dönüşümlü voltametri (DV) ve kare dalga voltametrisinde (KDV) çalışma aralığı -1800 ve +1700 mV olacak şekilde ayarlanıp voltamogramlar alınmıştır. Kare dalga voltametrisinde aynı aralıkta çalışılarak tarama hızı 100 mV/s ayarlanmıştır. Aynı parametreler kullanılarak taramalar ters yönde de gerçekleştirilmiştir. Çalışma aralığı değiştirilmeden 50, 100, 250, 500, 1000 mV/s tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramlar alınmıştır.

5.7.2. Elektrokimyasal Ölçümlerde Ön İşlemler

Ölçümler alınmadan önce platin elektrot, platin tel ve doygun kalomel elektrot yüzeyi temizlenip aseton ve diklorometan ile yıkandıktan sonra elektrotlar kullanıma hazır hale getirilmiştir. Çalışma sırasında kullanılan cam malzemelerin temizliği ise kromik asit ve saf su ile yapılmıştır.

KDV ve DV ölçümleri sırasında ortamdaki çözünmüş oksijeni uzaklaştırmak için ölçümlerden önce en az 5 dakika ölçümü alınacak çözeltiden ve çalışma süresince hücreye oksijen girişini engellemek için hücreden saf azot gazı geçirilmiştir.

Ölçümlerde (DV ve KDV) destek elektrolit çözeltisi konsantrasyonu 0.1 M olacak şekilde, ekstra saf diklorometan (DCM) içerisine elektrokimyasal düzeyli tetrabutylamonyumperklorat (TBAP) ilavesi ile hazırlanmıştır. Bu çözeltiden 5 ml alınarak tüm ölçümler için gerekli çözelti sistemi oluşturulmuştur. Çözücü sisteminden kaynaklanabilecek safsızlıkları belirleyip giderebilmek için bu hazırlanan çözelti sistemiyle boş ölçümler yapılmıştır.

5.7.3. ANT Bromür Bileşiğinin Stok Çözeltilerinin Hazırlanması

İncelenen ANT bromür bileşiğinin 0.5 mM'lık 5 ml stok çözeltisi hazırlanıp elektrokimyasal ölçümleri yapılmıştır. Stok çözeltisi hazırlarken ultra saf DCM kullanılmıştır. Yeni sentezlenen ANT bromür bileşiğinin 0.5 mM 5 ml'lik çözeltisi, 5 ml destek elektrolit çözelti sisteminde çözülerek oluşturulan sistemde elektrokimyasal karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

5.7.4. Dönüşümlü Voltametri (DV) ve Kare Dalga Voltametri (KDV) Ölçümleri

Dönüşümlü voltametri (DV) ve kare dalga voltametri (KDV) ölçümleri harici bilgisayar ve 25 °C'de üç elektrot kombinasyonu kullanarak Gamry Interface 1000 Potansiyostat/Galvanostat voltametrik analizör cihazı ile yapılmıştır. Ölçümler, çalışma elektrotu olarak yüzey alanı 0.071 cm² olan platin elektrot, karşıt elektrot olarak platin tel ve referans elektrot olarak doygun kalomel elektrot (DKE) kullanılarak yapılmıştır (111).

5.8. Antioksidatif Aktivite Çalışmaları

5.8.1. Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Süperoksit dismutaz aktivitesi Beauchamp ve Fridovich (112) tarafından geliştirilen nitro mavisi tetrazolyum (NBT) indirgeme metodu kullanılarak belirlendi. $O_2^{\cdot-}$ 'nin miktarı ve baskılanma oranı 560 nm'deki absorbans ölçülerek belirlendi. Süperoksit radikalleri ($O_2^{\cdot-}$) 0.1 mM EDTA, 2 μ M riboflavin, 13 mM L-metiyonin ve 75 μ M NBT içeren 50 mM fosfat tamponundan (pH 7.8) oluşan sistem ile üretildi. ANT'nin farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış çözeltileri radikal üreten bu çözelti sistemlerine ilave edilerek her bir reaksiyon karışımı 5 dakika floresan ışığında inkübe edildikten sonra örneklerin absorbansı 560 nm'de ölçüldü. Test edilen bileşiği içermeyen karışımın absorbansı kontrol olarak kullanıldı. NBT indirgenmesinin yüzde süpürme kapasitesi (%SC) aşağıdaki şekilde hesaplandı.

$$\%SC = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}})100 / A_{\text{kontrol}}]$$

SC₅₀ değerleri, ANT konsantrasyonuna karşı %SC değerleri grafiğe geçirilerek hesaplandı. Aynı denemeler doğal SOD enzimi ile tekrarlanarak elde edilen SC₅₀ değeri ANT için elde edilen değerle karşılaştırılarak kompleksin SOD eşdeğeri olabileceği değerlendirildi.

5.8.2. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi

Bileşiklerin 2,2-difenil-1-pikril hidrazil (DPPH) radikal süpürme aktivitesi, Blois yöntemine göre yapıldı (113). DPPH radikali kararlı bir radikaldır ve tek bir elektron varlığı nedeniyle 517 nm'de güçlü absorpsiyon bandı gösterir. Bu absorpsiyon, radikal süpürücülerin hidrojen atomu veya elektron verebilme yatkınlıkları etkisiyle DPPH'nin metanoldeki çözeltisinin mor renginin açılmasıyla azalır. 0.1 mM DPPH'nin metanoldeki çözeltisi üzerine değişik konsantrasyonlardaki ANT çözeltisinden ilave edilerek karanlıkta ve oda sıcaklığında 20 dakika inkübasyonun ardından 517 nm'de absorbans ölçüldü ($A_{\text{örnek}}$). 0.1 mM 1mL DPPH metanoldeki çözeltisinin 517 nm'deki absorbansı ölçüldü (A_{kontrol}). Standart olarak 2(3)-*t*-Bütıl-4-hidroksianisol (BHA) ve L-askorbik asit kullanıldı. DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi, DPPH radikallerinin süpürülme kapasitesi (%SC) şeklinde ANT'nin farklı konsantrasyonları için aşağıdaki şekilde hesaplandı (114).

$$\%SC = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}})100/A_{\text{kontrol}}]$$

SC₅₀ değerleri, ANT konsantrasyonuna karşı %SC değerleri grafiğe geçirilerek hesaplandı.

5.9. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

ANT Bromür bileşiği Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonundan elde edilmiş 11 bakteri türüne (Tablo 4) karşı ayrı ayrı test edildi.

Tablo 4. MİK'te kullanılan mikroorganizmaların adı ve ATCC numaraları

Bakteri isimleri	Bakterilerin ATCC numaraları
G+	
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228
G-	
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Klebsiella pneumonia</i>	ATCC 13883
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 13315
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 14028
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	ATCC 911
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047

5.9.1. Disk Difüzyon Yöntemi ile İn-vitro Antimikrobiyal Belirlenmesi

ANT Bromür bileşiğinin antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi (115-117) vasıtasıyla belirlendi. Her bir bakteri kültürleri Mueller-Hinton et suyu besiyerine aşılandı ve 16 saat boyunca 37 °C'de inkübe edildi, daha sonra, OD₆₂₅ = 0.08-0.1 ayarlandı (yaklaşık olarak 1 x 10⁷-1 x 10⁸ CFU/mL). Bakteriyel süspansiyonları 100 µL bir 60 mm Petri kabındaki Mueller-Hinton agar yüzeyi üzerine yerleştirildi ve bir Drigalski ucu ile homojen olarak yayıldı. Diskler (6.0 mm çap), her bir bakteri ihtiva eden agarın yüzeyi üzerine yerleştirildi ve ANT Bromür bileşiği çözeltisinin 10 µL'si (10 µg/disk) ile emdirildi, ve Petri kapları, 24 saat boyunca 37 °C'de inkübe edildi. 10 µg/disk (Sigma)'te pozitif referans olarak Kanamisin antibiyotiği kullanılmıştır.

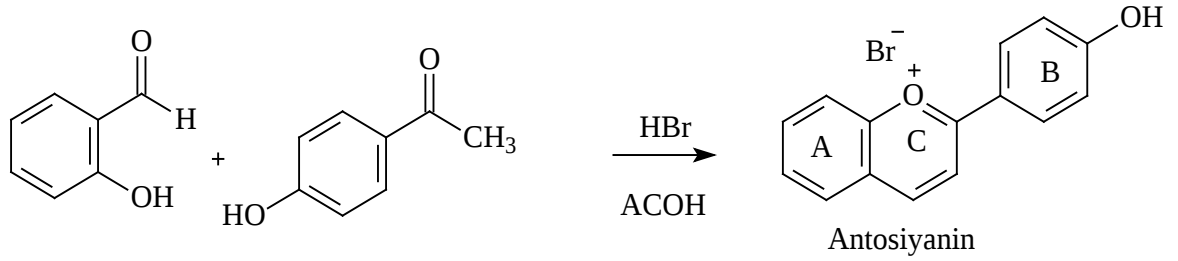
İnhibisyon alanları toplam çapları dikkate alınarak bir çap ölçer ile ölçüldü. Benzer şekilde, her bir levha 10 µL metanol ve bir antibiyotik disk içeren boş bir disk taşımaktadır. Her deney 3 kez gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık çapı ≥ 6 mm metanol öze ile emdirilmiş disklerdeki inhibisyon bölgesi olan bakteri, MİK için kullanılmıştır.

5.9.2. Mikro Seyreltme Testi

MİK değerleri, disk difüzyon testinde sentetik ekstraktına duyarlı bakteri türleri için belirlenmiştir. Bakteri türlerinin inokulumları 12 saatlik agar kültürlerinden hazırlandı ve süspansiyonun bulanıklığı 0.5 McFarland bulanıklığına eşdeğer olarak ayarlandı. Metanolde çözünen ekstraktlar, öncelikle test edilmek için yüksek konsantrasyonlara (500 µg/mL) seyreltildi ve daha sonra Mueller-Hinton et suyu içeren 1mL'lik test tüplerinde 500 µg/mL'den 0.49'a konsantrasyon aralığı elde etmek için seri olarak 2 kez seyreltilmiştir. Bakteri türlerine karşı ANT Bromür bileşiğinin MİK değeri, bir mikro seyreltme metodunun temeline göre belirlenmiştir (115-117). 4500 µL Mueller-Hinton et suyu ihtiva eden birinci tüpe, 5000 µg/mL konsantrasyonda hazırlanmış sentetik ekstraktların stok çözeltilerinden 500 µL eklendi. Daha sonra, seri seyreltmelerden 2500 µL, on bir ardışık tüpe aktarılmıştır. Son tüp (12. tüp) 2500 µL bileşik içermeyen Mueller-Hinto et suyu içeriyordu. Her bir tüp için son hacim 2500 µL'dir. Kanamisin 500-0.49 µg/mL arasında değişen bir konsantrasyon aralığında Mueller-Hinton et suyu içinde hazırlandı ve pozitif kontrol için standart bir ilaç ve her bir şerit üzerine aşılama ile negatif kontrol olarak kullanılmıştır. 96 oyuklu plakaların her birine, dağıtma ile seyreltilmiş bileşik içeren Mueller-Hinton et suyunun 200 µL'si hazırlandı ve 12 saatlik agar kültürlerinden 0.5 McFarland'in 5 µL'si, her oyuğa ilave edildi. Plaka, bir steril plaka kapatıcı ile kaplandı. Her bir oyuğun içindekiler, 24 saat boyunca 37 °C sıcaklıkta inkübe edildi. Her bir ortam içindeki mikrobiyal büyüme, spektrofotometre (Molecular Devices, SpectraMax M2) kullanılarak 600 nm dalga boyunda ayrı ayrı okuma ile belirlendi ve Mueller-Hinton agar ortamı üzerinde her kuyudan 10 µL numune tepsisi ile doğrulandı. Bu çalışmada test edilen ANT Bromür bileşiği, her organizmaya karşı iki kez tarandı.

6. BULGULAR

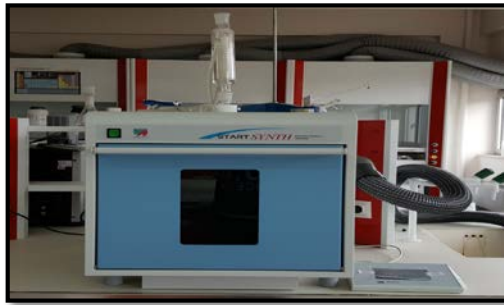
6.1. ANT Bromür Bileşiğinin Sentezi



Denklem 5

¹ H spektrum	Ek 1
¹³ C-APT spektrum	Ek 2
COSY spektrum	Ek 3
FT-IR spektrum	Ek 4
UV-Vis spektrum	Ek 5, Ek 6, Ek 7
LC-MS/MS spektrum	Ek 8

ANT Bromür bileşiği, 2-Hidroksi benzaldehit ve 4-hidroksiasetofenon bileşiklerinin asidik ortamda HBr eklenmesiyle mikrodalga ile dört dakikada sentezlendi.



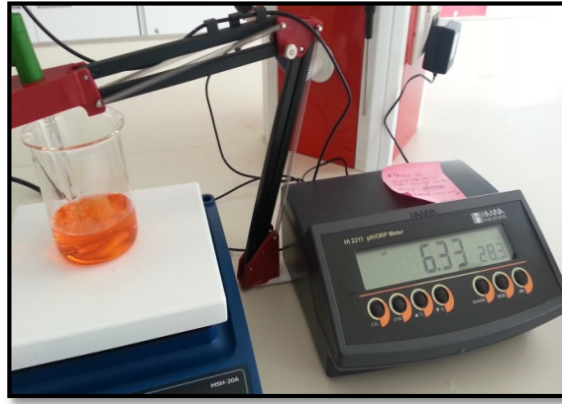
Resim 3. Mikrodalga

6.2. ANT Bromür Bileşiğinin Boyar Madde Özelliği

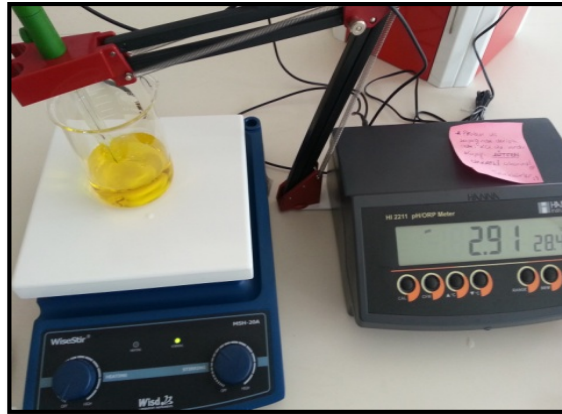
Antosiyanin yapısındaki maddelerin renk verici özelliği bilindiğinden sentezlenen ANT bromür bileşiğinin boyar madde özelliği, yapılan kağıt deneyleriyle kanıtlanmıştır.

6.3. ANT Bromür Bileşiğinin İndikatör Olarak Kullanımı

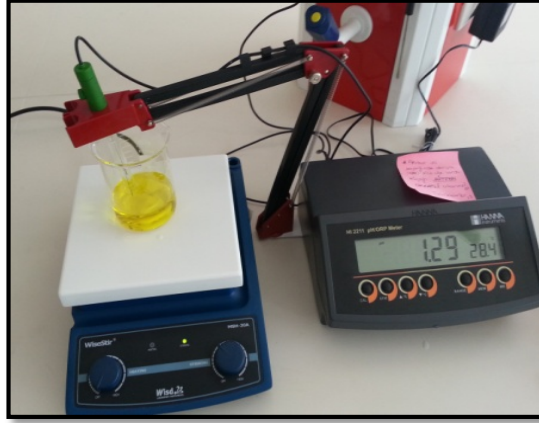
Sentezlenen ANT Bromür bileşiğinin çözeltisi hazırlanarak pH metrede ölçümler yapıldı. Asit ve baz çözeltilerinden damlatıldığında çözelti renginin değişimiyle pH'da değişim olduğu görüldü.



Resim 4. pH'ı 6.33 iken çözeltinin rengi



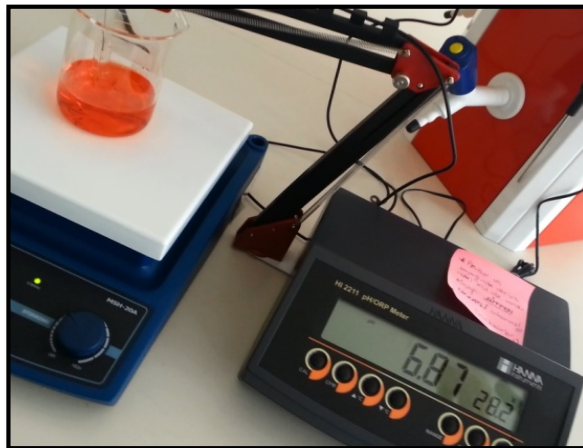
Resim 5. 1M'lık H_2SO_4 damla damla eklendiğinde pH 2.91'de çözeltinin rengi koyu sarı



Resim 6. 1M'lık H_2SO_4 damla damla eklendiğinde pH 1.29'da çözeltinin rengi koyu sarı



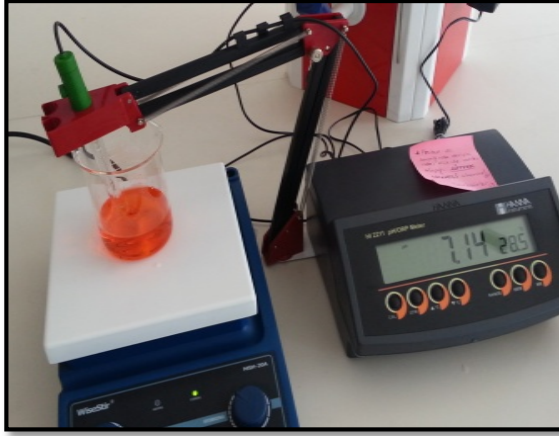
Resim 7. 1 M'lık NaOH damla damla eklendiğinde rengin dönmeye başladığı an



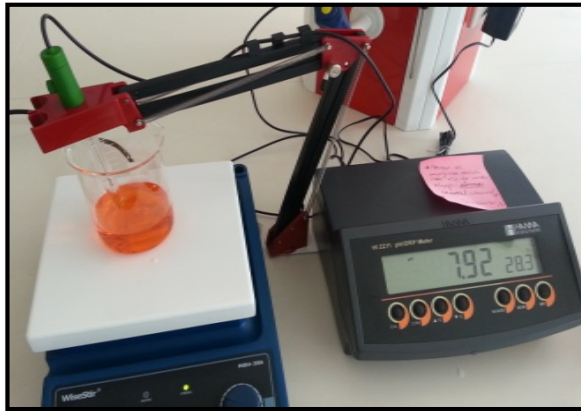
Resim 8. 1 M'lık NaOH damla damla eklendiğinde pH 6.87'de çözeltinin rengi kırmızı



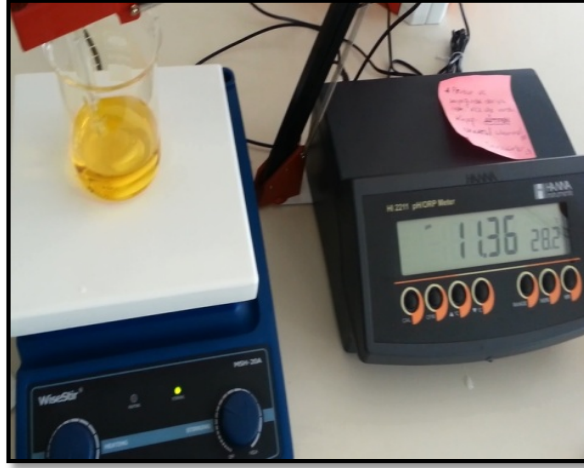
Resim 9. 1 M'lık NaOH damla damla eklendiğinde pH 7.02'de çözeltinin rengi kırmızı



Resim 10. 1 M'lık NaOH damla damla eklendiğinde pH 7.14'te çözeltinin rengi kırmızı



Resim 11. 1 M'lık NaOH damla damla eklendiğinde pH 7.92'de çözeltinin rengi turuncu



Resim 12. Baz ilavesine devam edildikçe çözeltinin renginin pH 11.36'dan itibaren açık sarıya döndüğü an



Resim 13. pH 11.94 iken çözeltinin rengi açık sarı

Bu renk dönüşümlerinin analizinin ardından adi süzgeç kağıtları boyar madde çözeltisinin olduğu kabın içine konularak boyar maddenin adi süzgeç kağıdına tutunması sağlandı. Bu işlemin ardından kağıtlar kurumaya bırakıldı.

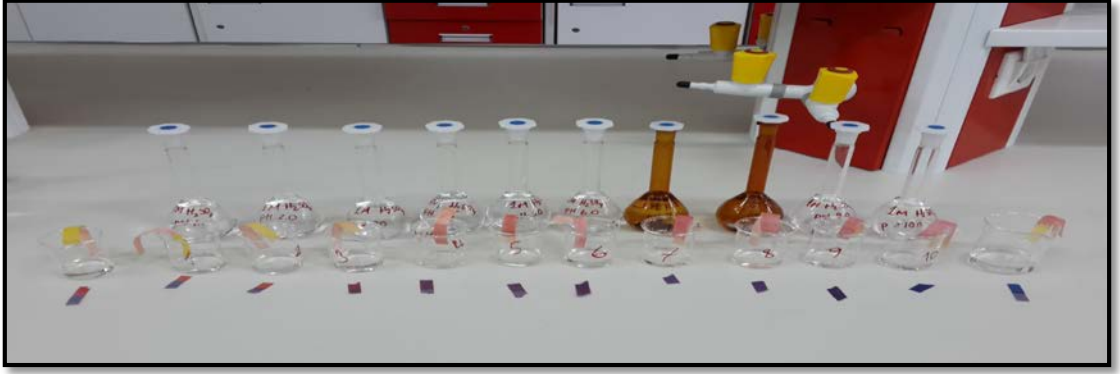


Resim 14. Adi süzgeç kağıtlarının pH kağıdı olarak hazırlanması



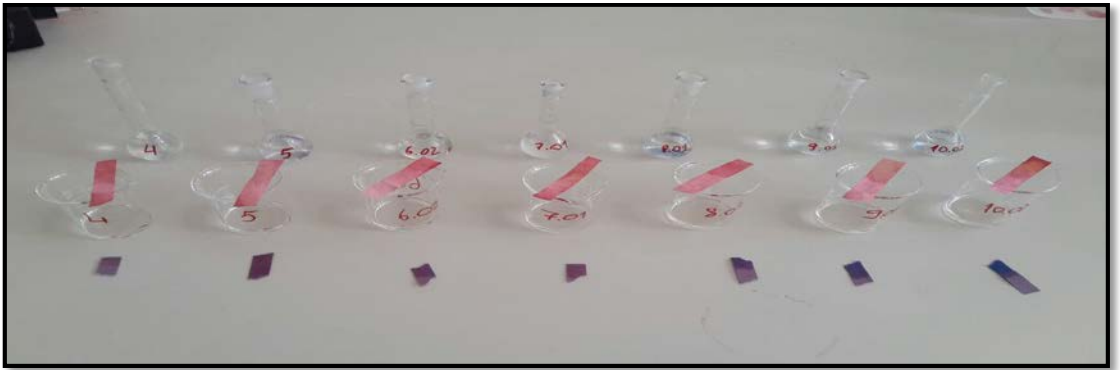
Resim 15. Hazırlanan pH kağıtlarının kurutulması

pH kağıtlarının hazırlanmasının ardından pH'ı 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.01, 8.0, 9.0, 10.0 olan 1 M'lık asit-baz çözeltileri hazırlandı. pH değişimine göre turnusol kağıtlarındaki renk değişiminin, boya emdirilmiş adi süzgeç kağıdında renk değişimi olduğu gözlemlendi. Ayrıca 1M'lık asit baz çözeltilerinin farklı pH'lardaki değişimini desteklemek amaçlı iki ayrı beherden birine 1M'lık asit çözeltisi ve diğerine de 1 M'lık baz çözeltisi konuldu. Böylece pH değişimlerindeki renk değişimi net olarak gözlemlendi. Bazı pH değerlerinde renk değişimi net olarak görülürken bazı pH'larda ise birbirine yakın renk geçişleri olduğu görüldü.



Resim 16. pH'ı 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.01, 8.0, 9.0, 10.0 olan 1 M'lık asit- baz çözeltileri ve boyar madde emdirilmiş adi süzgeç kağıtları (beherde asılı olanlar) ile turnusol kağıtlarındaki renk değişimleri

Bazı pH değerlerinde birbirine yakın renkler gözlenmesi üzerine aynı şekilde artan derişimle pH değışimleri daha iyi gözlenebilir mi diye 3 M'lık ve pH'ı 4.0, 5.0, 6.02, 7.01, 8.01, 9.01 ve 10.02 olan asit-baz çözeltileri kullanıldı. Böylece pH 1.0, 2.0 iken pH kağıdı koyu sarı olup pH 3.0 değerinde pH kağıdının renginin sarıdan kırmızıya doğru geçtiğı görüldü. 1 M ve 3 M çözeltilerinde pH 4.0, 5.0, 6.0, 7.01, 8.0 değerinde pH kağıtlarının renginin kırmızı olup bu rengin pH 9.0 ve 10.0 değerlerinde açılarak turuncuya döndüğü gözlendi. Ayrıca sol uçtaki beherde 1 M asit çözeltilisine daldırılan pH kağıdın rengi koyu sarı iken, sağ uçta 1 M'lık baz çözeltilisine daldırılan pH kağıdının renginin açık sarı olduğu görüldü.



Resim 17. pH'ı 4.0, 5.0, 6.02, 7.01, 8.01, 9.01 ve 10.02 olan 3 M'lık asit-baz çözeltileri ve boyar madde emdirilmiş adi süzgeç kağıtları (beherde asılı olanlar) ile turnusol kağıtlarındaki renk değışimleri

Bu renk değişimlerini daha iyi görmek adına pH kağıdı üretimine geçilmesine karar verildi. Çünkü boyar madde emdirilen süzgeç kağıdında dahi bu değişimler görölüyorsa kağıt yapım aşamasında boyar maddenin profesyonel bir şekilde direk kağıda tutundurulmasıyla daha iyi bir pH kağıdı üretilebileceği düşünölüdü.

6.4. ANT Bromür Bileşiğinin pH Kağıdı Üretiminde Kullanımı

ANT Bromür bileşiğinin selölözük tabakaya tutundurulmasıyla üretilen pH kağıtlarının ilk hali aşıağıdaki gibidir (Resim 18). Daha sonra bu kağıtlar strip formuna dönüştürölüdü (Resim 19).

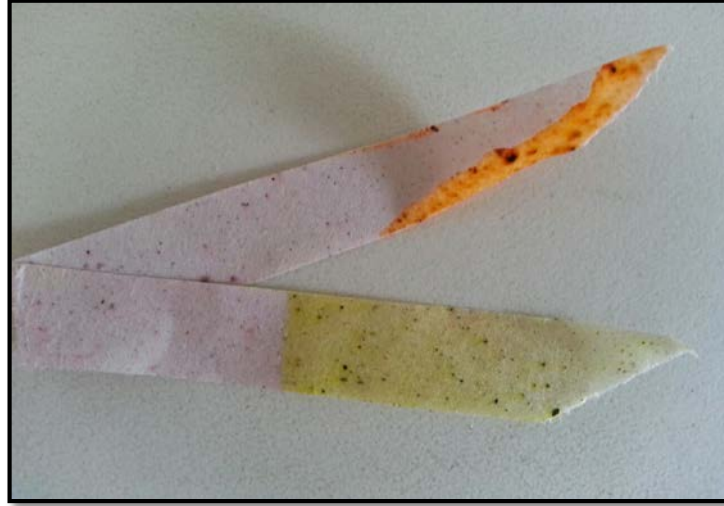


Resim 18. Üretilen pH kağıdı



Resim 19. Üretilen pH kağıtlarının strip formuna dönüştürölüdüğü hali

ANT Bromür bileşiği emdirilerek hazırlanan pH kağıdının asit ve baz çözeltililerindeki renk değişimi Resim 20'de görölüdüğü gibidir.

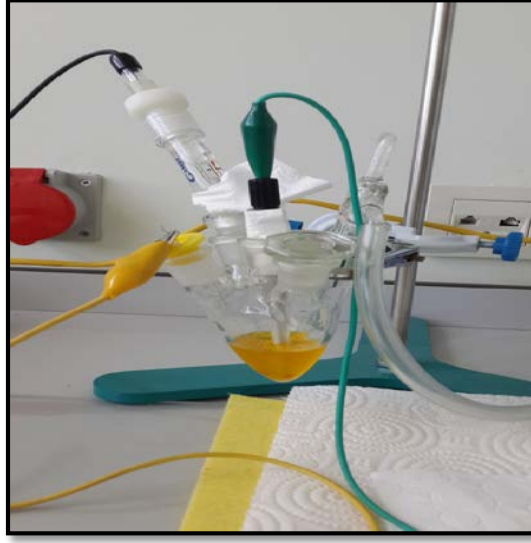


Resim 20. Üretilen pH kağıtlarında asit ve baza karşı renk değişimleri

*sarı: asit; turuncu: baz

6.5. Voltametrik Ölçüm Sonuçları

Tüm elektrokimyasal ölçümler Gamry Interface 1000 potansiyostat/galvanostat cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Sentezi gerçekleştirilen ANT bromür bileşiğinin elektrokimyasal davranışı diklorometanda hazırlanan 0.5 mM'lık çözeltilerinin 0.10 M DCM/TBAP destek elektrolit varlığında voltamogramları alınarak incelenmiştir. Bu çalışmada üç elektrotlu elektrokimyasal hücre kullanılmıştır. Ölçümler esnasında çalışma elektrotu olarak yüzey alanı 0.071 cm^2 olan platin disk elektrot, karşıt elektrot olarak platin tel, referans elektrot olarak da doygun kalomel elektrot (DKE) kullanılmıştır. Kare dalga voltametrisinde -1.8 ve +1.7 V çalışma aralığında, 5 mV adımlarla puls yüksekliği 100 mV olacak şekilde voltamogramlar alınmıştır. Dönüşümlü voltamogramlar alınırken çalışma aralığı değiştirilmemiş ve 50, 100, 250, 500, 1000 mV/s tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramlar alınmıştır. Dönüşümlü ve kare dalga voltametri ölçümlerinde kullanılan üç elektrotlu elektrokimyasal hücre Resim 21'de verilmiştir.



Resim 21. Üç elektrotlu elektrokimyasal hücre

Tüm voltametrik veriler doygun kalomel elektroda (DKE) karşı verilmiştir. a: $E_{1/2}$ değerleri 0.100 Vs^{-1} tarama hızında doygun kalomel elektroduna karşı $[(E_{pa}+E_{pc})/2]$ olarak verilmiştir.

6.6. Antioksidatif Aktivite Sonuçları

6.6.1. Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Kompleksler NBT testi ile SOD aktivitesi için biyolojik pH ($\text{pH}=7.8$)’da incelendi. Yapılan çalışmalar sonrasında ortamda oluşturulan süperoksit radikallerinin %50’sini süpüren kompleks konsantrasyonları hesaplanarak aynı yöntemle test edilen ticari SOD enzimi için hesaplanan SC_{50} değeri ile karşılaştırılmıştır (Şekil 24).

6.6.2. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi

İncelenen ANT bileşiğinin antioksidan etkinliğini ikinci bir yolla ortaya koymak amacıyla, hızlı, basit ve uygun bir yöntem olması sebebiyle DPPH radikallerini süpürme kapasitesi de incelendi. Bu amaçla metanol içerisindeki DPPH çözeltisinin absorbasındaki düşme ANT ilavesiyle takip edildi. Absorbansın %50 oranında düşmesini sağlayan ANT konsantrasyonu SC_{50} olarak değerlendirildi ve bu değer aynı şartlarda bilinen antioksidan maddeler olan Askorbik asit ve BHA için yapılan denemeden elde edilen SC_{50} değeriyle karşılaştırıldı (Tablo 7).

6.7. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Bu çalışmada mikroorganizmalara karşı ayarlanan ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri kalitatif ve kantitatif olarak inhibisyon bölgeleri, alan çapları ve MİK değerlerinin bulunuşu ile değerlendirilerek analiz edildi.

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

7.1. ANT Bromür Bileşiğinin Sentezi

Sentezlenen ANT bromür bileşiğinin yapısını aydınlatmak amacıyla kullanılan ^1H NMR spektrumu (Ek 1), ^{13}C -APT spektrumu (Ek 2), COSY spektrum (Ek 3), FT-IR spektrum (Ek 4), UV-Vis spektrum (Ek 5, Ek 6, Ek 7), LC-MS/MS spektrum (Ek 8) eklerde verilmiştir. Elde edilen spektrum verilerine göre ANT bileşiğinin yapısı yorumlandı.

Tablo 5. ANT Bromür bileşiğinin ^1H ve ^{13}C spektrum verileri

	$1^{a,b}$	
	δ_{H}, J	δ_{C}
2		166.53
3	8.98, d, J= 8	129.73
4	8.30, d, J= 8	138.64
5	7.99-8.09, m	130.29
6	7.75, t, J= 12, 8	118.58
7	7.99-8.09, m	154.24
8	7.99-8.09, m	116.46
9	-	155.20
10	-	123.34
1'	-	119.79
2'	8.25, d, J= 8	134.03
3'	6.92, d, J= 8	117.76
4'	-	174.35
5'	6.92, d, J= 8	117.76
6'	8.25, d, J= 8	134.03

*^aKimyasal kayma değerleri TMS'ye göredir.

**^bKimyasal kayma değerleri ^1H - ^1H COSY ve ACD NMR programı yardımıyla çözümlendi.

7.2. ANT Bromür Bileşiğinin Boyar Madde Özelliği

ANT Bromür bileşiği antosiyanin yapısında olmakla birlikte doğal antosiyaninler gibi boyar madde özelliği taşımaktadır. Bu maddenin renklendirici yapısı, çok küçük miktarlarının dahi iyi bir boyama sağlamasıyla belirlendi. Daha sonra kağıt deneyleriyle boyama özelliği teyit edildi. Suda çözünebilen asidik bir boyar maddedir.

7.3. ANT Bromür Bileşiğinin İndikatör Olarak Kullanımı

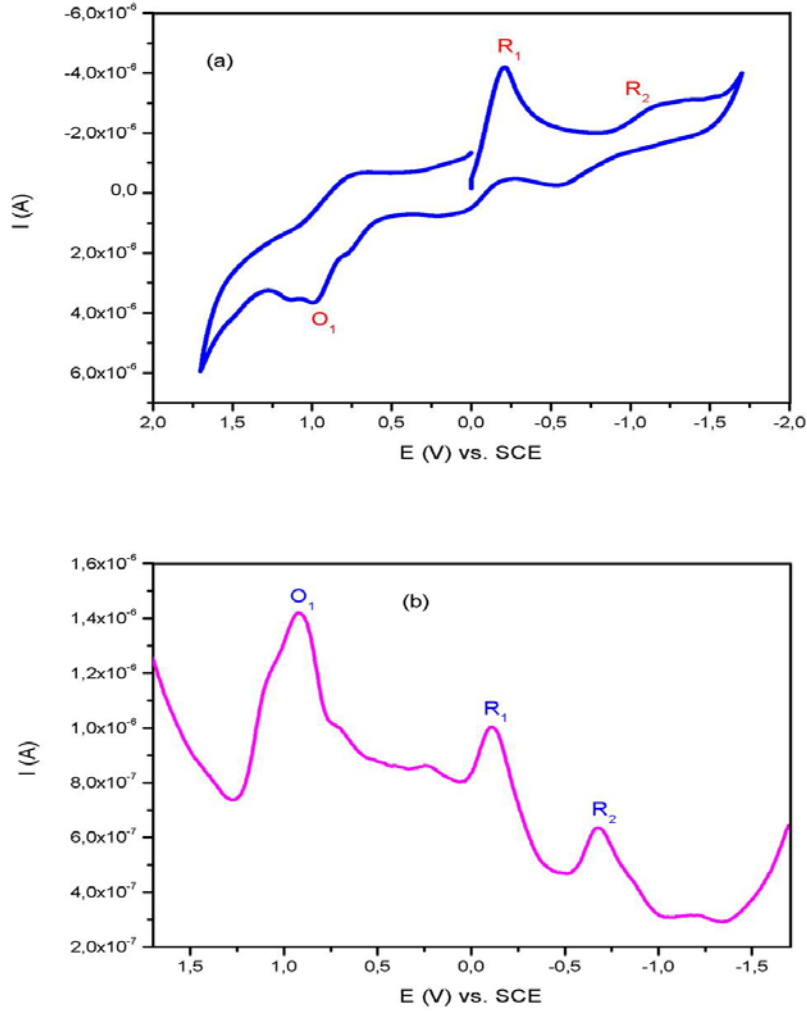
Farklı pH'larda boyar maddenin renginin değiştiğinin görülmesi üzerine boya emdirilmiş adi süzgeç kağıtları farklı pH'lardaki çözeltilere daldırıldığında renk değişimi gözlemlendi. Bu renk değişimleri özetle şu şekilde açıklanabilir. Maddenin orjinal rengindeki çözeltiye 1M'lik H_2SO_4 damla damla eklendikten sonra pH 2.91 ve pH 1.29'da çözeltinin açık sarı renkte olduğu gözlemlendi. Daha sonra damla damla 1 M NaOH ilavesi yapılarak çözeltinin rengi pH 3.41- 4.00 dan itibaren orjinal rengi olan kırmızıya yakın tonlara dönmeye başladı ve pH aralığı 6.87-7.14'de çözelti boyar maddenin orjinal rengine (kırmızı) döndü. Daha sonra baz ilavesiyle çözeltinin rengi pH 7.92'den sonra turuncuya dönmeye başladı. Artan baz ilavesiyle pH 11.36'dan itibaren çözelti renginin koyu sarıya döndüğü gözlemlendi.

7.4. ANT Bromür Bileşiğinin pH Kağıdı Üretiminde Kullanımı

pH kağıdı üretiminin ardından bu kağıtlar kullanılmaya başlandı ve bir çözeltinin asit ve baz olduğunu anlamada yardımcı olduğu görüldü. Asit çözeltisine daldırıldığında sarıya dönen pH kağıdının, baz çözeltisine daldırıldığında ise turuncuya döndüğü sonucuna varıldı. Bu sayede bir maddenin asit mi baz mı olduğunu anlamak amacıyla üretilen bu kağıtların kullanılması uygun görüldü.

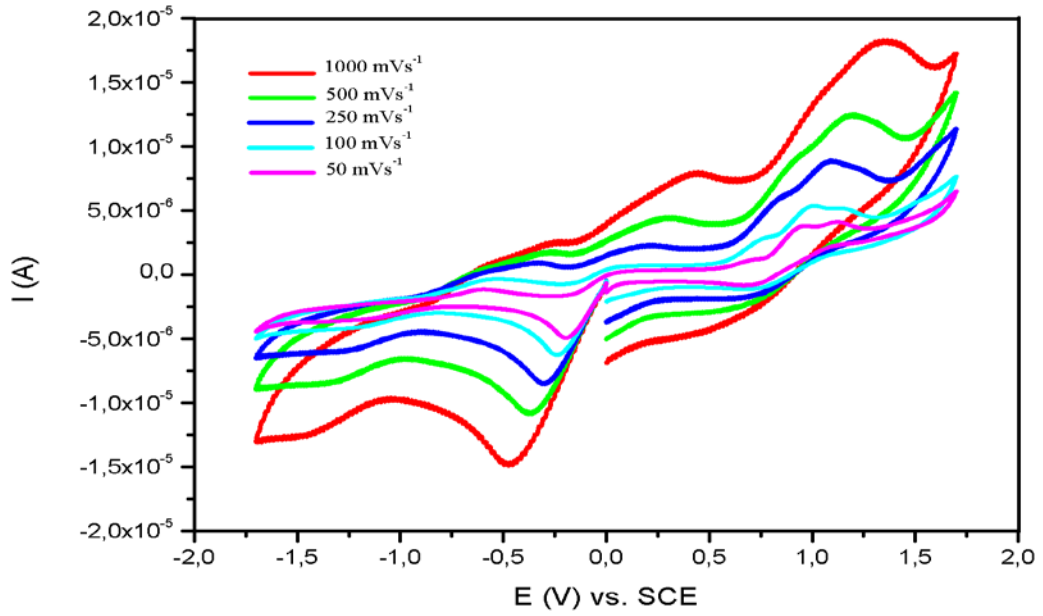
7.5. Voltametrik Ölçüm Sonuçları

Antosiyanin bileşiğinin bir platin çalışma elektrodu üzerinde DCM/TBAP destek elektrolit varlığında 100 mVs^{-1} tarama hızında katodik ve anodik bölgede alınan dönüşümlü voltamogram (DV) ile anodik ve katodik bölgede alınan kare dalga (KDV) voltamogramları Şekil 21'de görülmektedir.



Şekil 21. a) Antosiyenin bileşiğinin DCM/TBAP destek elektrolit varlığında 100 mVs^{-1} tarama hızında katodik ve anodik bölgede alınan dönüşümlü voltamogramı b) Anodik ve katodik bölgede alınan kare dalga voltamogramı

Şekil 21. a) incelendiğinde ANT Bromür bileşiğinin katodik ve anodik potansiyel taraması sırasında iki adet indirgenme ve bir adet yükseltgenme reaksiyonu verdiği belirlenmiştir. Sırası ile R_1 ve R_2 olarak ifade edilen indirgenme piklerinin yarı dalga pik potansiyelleri antosiyenin bileşiği için $E_{1/2}$: -0.19 V (R_1) ve -0.85 V (R_2) olarak ve O_1 ile ifade edilen yükseltgenme pikinin yarı dalga pik potansiyeli 0.87 V olarak hesaplanmıştır. ANT Bromür bileşiğinin Şekil 21. b) de görülen kare dalga voltamogramında indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonlarına ait piklerin (R_1 , R_2 , O_1) aynı şekilde ortaya çıkması reaksiyonların doğruluğunu teyit etmektedir.



Şekil 22. Antosiyenin bileşiğinin DCM/TBAP destek elektrolit varlığında 50-1000 mVs⁻¹ tarama hızlarında katodik ve anodik bölgede alınan DV voltamogramı

Şekil 22'de ise sentezlenen antosiyenin bileşiğinin anodik ve katodik bölgedeki piklerin farklı tarama hızlarındaki (50, 100, 250, 500, 1000 mV/s) dönüşümlü voltamogramları alınmıştır. Şekil 22 incelendiğinde sentezlenen antosiyenin bileşiğinin tarama hızının artışı ile pik akımlarının da aynı oranda arttığı belirlenmiştir.

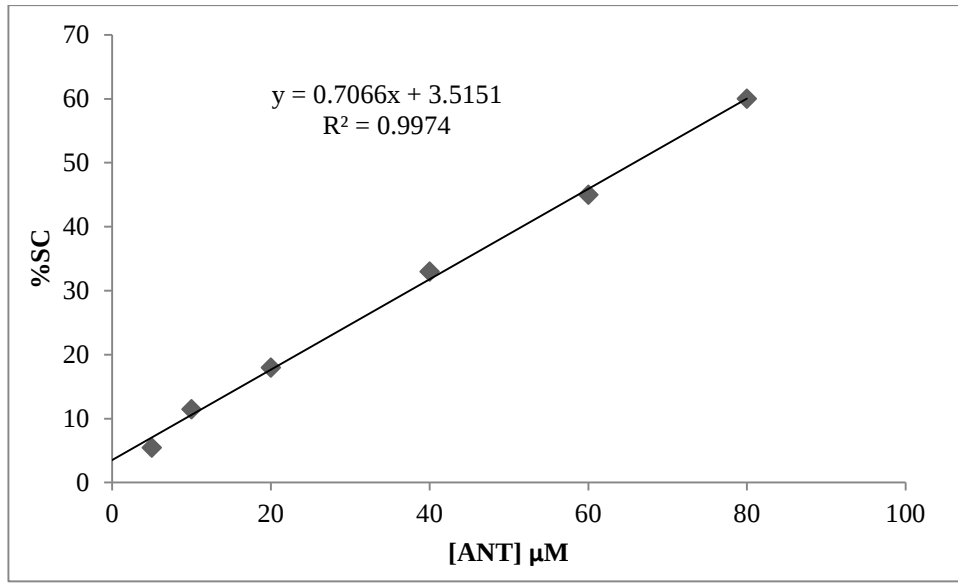
Tablo 6. Sentezlenen antosiyenin bileşiğinin voltametrik analiz sonuçları

Bileşik	Redoks Basamağı	^a E _{1/2}
Antosiyenin	R ₁	-0.19
	R ₂	-0.85
	O ₁	0.87

7.6. Antioksidatif Aktivite Sonuçları

7.6.1. Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Yapılan çalışmalar sonucunda ortamda oluşturulan süperoksit radikallerinin %50'sini süpüren kompleks konsantrasyonları hesaplanıp ardından aynı yöntemle test edilen ticari SOD enzimi için hesaplanan SC₅₀ değeri ile karşılaştırılarak elde edilen değerler Tablo 7'de özetlenmiştir.

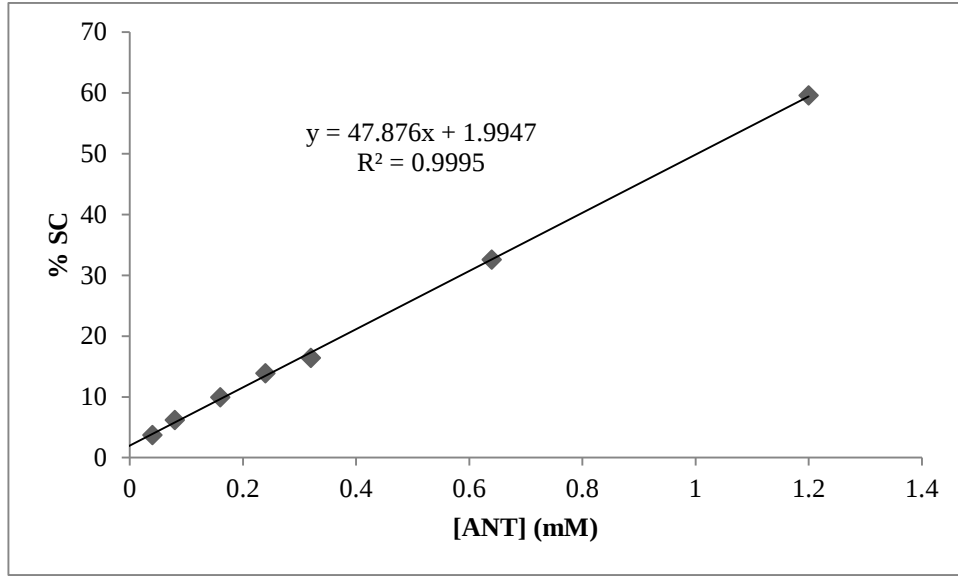


Şekil 23. ANT'nin SOD aktivitesi için konsantrasyon-%SC grafiği

Çizilen konsantrasyon-% süpürme aktivitesi grafiğinden, süperoksit radikallerinin %50'sini süpüren ANT konsantrasyonu 65.78 µM olarak bulunmuştur.

7.6.2. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi

ANT'nin BHA'ya göre daha düşük SC₅₀ değerine sahip olduğu yani DPPH radikallerini giderme etkinliğinin daha yüksek olduğu ortaya konuldu. Askorbik asit ile kıyaslandığında ise askorbik asitin daha yüksek DPPH radikal süpürme kapasitesine sahip olduğu tespit edildi (Şekil 24).



Şekil 24. ANT'nin DPPH aktivitesi için konsantrasyon-%SC grafiği

Çizilen konsantrasyon-% süpürme aktivitesi grafiğinden, DPPH radikallerinin %50'sini süpüren ANT konsantrasyonu 1.00 mM olarak bulunmuştur.

Tablo 7. ANT'nin antioksidatif etkinliği

Bileşik Adı	SOD (SC ₅₀ , µM)	DPPH (SC ₅₀ , mM)
ANT	65.78±0.08	1.00±0.05
SOD	0.025x10 ⁻³ ±0.004	-
BHA	-	1.47±0.06
Askorbik asit	-	0.027±0.004

7.7. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Antimikrobiyal aktivite tayininde 11 bakteri türüne karşı iki ayrı yöntemle analiz yapıldı. Mikroorganizmalara karşı ayarlanan ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri kalitatif ve kantitatif olarak inhibisyon bölgeleri, alan çapları ve MİK değerlerinin bulunuşu ile değerlendirilerek analiz edilen ANT Bromür bileşiği, Kanamisin

antibiyotiğiyle karşılaştırıldığında gram pozitif bakterilerde ve *E. coli*'de (gram negatif) daha iyi etkinlik gösterdiği görüldü (Tablo 8).

Tablo 8. Test edilen bakteri türlerine karşı MİK değerleri

ID Bakteri	Kanamisin	ANT Bromür
<i>B. subtilis</i>	0.196	0.0392
<i>E. faecalis</i>	6.25	0.0784
<i>S. aureus</i>	0.782	0.0392
<i>S. epidermidis</i>	0.392	0.0392
<i>E. coli</i>	1.562	1.25
<i>K. pneumonia</i>	0.392	2.5
<i>P. aeruginosa</i>	--	10
<i>P. vulgaris</i>	0.196	0.3124
<i>S. typhimurium</i>	1.562	2.5
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	0.782	1.25
<i>E. cloaceae</i>	1.562	2.5

*MİK, µg/mL olarak minimum inhibitör konsatrasyonu

**ID, Yaklaşık olarak ≥ 6 mm çapta diskteki inhibisyon alanı

8. SONUÇLAR

Günümüzde, antosiyaninlerin sentezi için çok fazla yöntem bulunmamaktadır. Antosiyanin bileşiklerinin önemli biyolojik aktivitelere sahip olması bu bileşikler için yeni birçok sentez yöntemlerinin denenmesine neden olmuş ve tek kademede çok az reaksiyon gerçekleştirilebilmiştir. Bu çalışmada antosiyanin sentezi için farklı bir yöntem önerildi. ANT Bromür bileşiğinin sentezi hidrojen bromür ile asidik ortamda tek basamakta mikrodalga kullanılarak dört dakikada gerçekleştirildi. Bu yeni metotla kromatografik saflaştırmaya gerek kalmadan yüksek verimde literatürde olmayan bir antosiyanin bileşiği elde edildi. Böylece hem biyolojik hemde kimyasal özellikleri bakımından çok büyük öneme sahip olan antosiyaninler için yeni bir metot geliştirildi. Reaksiyonun yeşil kimya adıyla anılan mikrodalga yöntemiyle çok kısa bir sürede gerçekleştirilmesi, verim olarak %100'e yakın reaksiyon verimliliği ve reaksiyon maliyetleri açısından önemli bir yeniliktir. Ayrıca yeni önerilen metot ile kirlilik oluşumunu önemli ölçüde azaltılmaktadır.

Bu tez kapsamında literatürde olmayan antosiyanin yapısında bir boyar madde elde edilmiştir. ANT Bromür bileşiği suda çözünen asidik bir boyar maddedir. Bunun yanında farklı pH değerlerinde renk değiştirmesi üzerine bu bileşiğin indikatör olarak kullanımı incelenerek pH kağıdı üretilmesine karar verildi.

Turnusol kağıdı kimyada kullanılan asit-baz ayıraçlarından biridir. Çözeltilerdeki asit ve bazları ayırt etmekte kullanılır. Turnusol, asitle temas ettiğinde kırmızı, baz ile temas ettiğinde de mavi renk verir (1).

Turnusol boyar maddesi, genel olarak, açık havada, likenin bir türü olan *Rocella montagnei* Bel., *R. fuciformis* D.C., *R. fucoides* Wain, ve *Ochrolechia tartarea* Massal, bitkileri gibi sebze olan *Rocella tinctoria* D. C., bitkisinin alkalın koşullar altında ilave bir amonyum tuzu ile fermente edilmesiyle hazırlanır. Bilinen bir yöntemle bir turnusol boya maddesi üretmek üzere yaklaşık 40 gün kadar uzun bir süre gerektirir ve hammaddesi olan liken, dünyanın sadece çok sınırlı bölgelerinde bulunur. Bu da turnusol kağıdı hazırlama sürecinin kaçınılmaz dezavantajlarıdır. Likenden bazik ortamda fermente edilmesiyle elde edilen β -Orcin suda çözünen bir boyar maddedir ve değişik işlemlere tabi tutularak mavi turnusol boyar maddesi üretilir. Çözelti olarak veya bir filtre kağıdına emdirilerek kullanılır. Bu kağıda pH belirteci denir ve

maddelerin asitliğini ölçmek için kullanılır. Renk değişimi 4.5-8.3 pH aralığında menekşe tonlarında olur (25 °C'de) (118).

ANT Bromür bileşiğinin pH 2.91 ve pH 1.29'daki çözeltisinin koyu sarı renkte olduğu gözlemlendi. Daha sonra damla damla 1 M NaOH ilavesi yapılarak çözeltinin rengi pH 3.41- 4.00'dan itibaren orjinal rengi olan kırmızıya dönmeye başladı ve pH aralığı 6.87-7.14'de çözelti boyar maddenin orjinal rengine (kırmızı) döndü. Daha sonra baz ilavesiyle çözeltinin rengi pH 7.92'den sonra turuncuya dönmeye başladı. Artan baz ilavesiyle pH 11.36'dan itibaren çözelti renginin açık sarıya dönmeye başladığı gözlemlendi.

UV spektrumunda asidik bölgede pH 3.46'ya kadar 346 nm'de tek bir pik gözlemlenmiş olup bu pH değerine kadar çözeltinin rengi sarıdır. pH 3.46 ve 8.43 aralığında 286 ve 434 nm' de UV max bandı gözlemlenmiştir ve çözelti rengi bu aralıkta kırmızıdır. pH 8.43'ten yukarıdaki pH'larda 300 ve 498 nm' de max absorbanlar gözlemlenmiş olup pH 8.43'ten sonra çözeltinin rengi turuncuya dönmüştür. Bu sonuçlar yapılan indikatör çalışmalarıyla paralellik göstermektedir. Bu çalışmalar ışığında bu bileşiğine ait 2 adet dönüm noktası olduğu görülmüştür. Bu dönüm noktaları sırasıyla pH 3.46 ve 8.43'tür. Bunun yanında pH 11.36'dan itibaren çözeltinin renginin açık sarıya döndüğü kaydedilmiştir.

NMR spektroskopisinde, beklenildiği gibi tüm pikler aromatik bölgede çıkmıştır. ¹H piklerinin integral değerleri 1, 3, 3, 1, 2 şeklinde olup aromatik bölgede toplamda 10 H piki gözlenmiştir. ¹H COSY spektrumundan 3 ve 4 nolu protonların dublet olduğu gözlemlenmiştir. Fenolik OH protonu, NMR spektrumunda dötero suda NMR alındığı için gözlemlenememiştir. Karbon pikleri de beklendiği gibi aromatik bölgede çıkmıştır. Bileşikteki beş tane kuaterner karbon ¹³C-APT spektrumunda net bir şekilde gözlemlenmiştir. Tablo 5'te pik yorumları görülmektedir. IR spektrumunda fenolik OH piki 3273 cm⁻¹'de bariz bir şekilde gözlenmiştir. Aromatikliğin bir kanıtı olarak 1957 cm⁻¹'lerde testere dişler gözlemlenmiştir. Kütle spektrumunda, molekül iyonik olduğu için Br molekülden ayrılarak, (M+1) ve (M+23) şeklinde temel pik gözlemlenmiştir.

ANT Bromür bileşiğinin suda çözülmesiyle 5 ppm'den 1 mg/mL'ye kadar değişik konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltinin pH'ı 7'ye ayarlanarak kırmızı renkte bir çözelti elde edildi. pH kağıdı üretimi için öncelikle adi süzgeç kağıdı kullanıldı. Hazırlanan

çözelti içine şerit halinde adi süzgeç kağıtları konularak boyar maddenin adi süzgeç kağıdına tutunması incelendi. Sonuçların iyi çıkması üzerine boyar maddenin selülozik tabakaya tutunmasını incelemek amacıyla pH kağıdı üretimi yapıldı. Boyar madde konsantrasyonu arttıkça kağıda daha iyi tutunma gözlemlendi. Hazırlanan çözelti kırmızı renkte olduğu için pH kağıdının rengi de kırmızıdır. ANT bileşiğinden hazırlanan bu pH kağıtları, asit ve baz çözeltilerine batırıldığında; asit çözeltisine batırılan pH kağıdının rengi sarı, baz çözeltisine batırılan pH kağıdı ise turuncu renk alır. Hazırlanan pH kağıdının renk çalışma aralığı asitler için pH 3.46'ya kadar sarı olup bazlar için de pH 8.43'ten sonra turuncudur. Ayrıca pH 11.36'dan sonra rengin açık sarıya döndüğü gözlemlendi.

ANT bileşiğinden elde edilen asit baz belirteciyle çözümünü amaçladığımız teknik problemler; bilinen yöntemler bitki kaynaklı hammadde ihtiyacından dolayı bir dezavantajlıdır. Buradan elde edilen ürün ile, bitki bağımlılığı ortadan kalkmakta ve çok kısa sürede yeni geliştirilen pH kağıdı üretilmektedir.

Sentezlenen bileşiğin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerine bakıldı. Antioksidan aktivite tayininde; SOD yöntemiyle, süperoksit radikallerinin %50'sini süpüren ANT konsantrasyonu 65.78 μM olarak ölçüldü ve ANT'nin etkinliğinin SOD enziminin etkinliğinden daha az olduğu görüldü. Bunun nedeni SOD yüksek aktiviteye sahip bir enzimdir. Ancak ANT Bromür bileşiği de reaksiyonu katalizleyebildiği için SOD eşdeğeri olabileceği değerlendirildi DPPH yöntemiyle ANT'nin BHA'ya göre DPPH radikallerini giderme etkinliğinin daha yüksek olduğu ölçüldü. Askorbik asit ile kıyaslandığında ise askorbik asitin daha yüksek DPPH radikal süpürme kapasitesine sahip olduğu tespit edildi. ANT'nin BHA'ya göre daha yüksek antioksidan aktivite göstermesi üzerine bu bileşiğin toksikolojik etkileri araştırılıp antioksidan olarak kullanımı test edilebilir.

Antimikrobiyal aktivite tayininde 11 bakteri türüne karşı iki ayrı yöntemle analiz yapıldı. Mikroorganizmalara karşı ayarlanan ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri kalitatif ve kantitatif olarak inhibisyon bölgeleri, alan çapları ve MİK değerlerinin bulunuşu ile değerlendirilerek ANT Bromür bileşiği, Kanamisin antibiyotiğiyle karşılaştırıldığında gram pozitif bakterilerde ve E. coli'de daha iyi etkinlik gösterdiği

görüldü. Böylece ANT Bromür bileşiğinin, Kanamisin antibiyotiği yerine gram pozitif bakteriler ve E. coli'ye karşı kullanılabilirliği incelenebilir.

ANT Bromür bileşiğinin dönüşümlü voltametri ile katodik ve anodik potansiyel taraması sırasında iki adet indirgenme ve bir adet yükseltgenme reaksiyonu verdiği belirlendi. Aynı analiz kare dalga voltametri ile gerçekleştirildiğinde yine aynı pikler elde edilerek reaksiyonların doğruluğu teyit edildi. 50-1000 mV/s aralığında katodik ve anodik bölgede dönüşümlü voltamogramlar alındı. Burada elde edilen değerler sayesinde tarama hızıyla pik akımlarının aynı oranda arttığı ve azaldığı görülmüştür. Ayrıca dönüşümlü olarak voltamogramlar alındığında molekülün indirgenip ardından yükseltgenmesi ve bu döngünün tekrar tekrar devam etmesiyle indikatörün yapısının bozulmadığı kanıtlanmıştır. ANT Bromür bileşiği yapısal olarak incelendiğinde B halkasına bağlı -OH grubu olduğu görülmektedir. Yükseltgenme, bu grupta gerçekleşmektedir. Buradaki yükseltgenme antioksidan aktivite sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Çünkü -OH grubu sayısı arttıkça antioksidan aktivite artar ve bu gruptaki yükseltgenme bileşiğin antioksidan aktivitesiyle ilişkilidir. Genel olarak bakıldığında bileşiğin antioksidan ve antimikrobiyal aktivite sonuçları iyi çıkmıştır.

Bu tez 113R010 nolu TÜBİTAK projesi kapsamında yapılmış olup 2014/12876 patent dosya no ile patent başvurusu yapılarak koruma altına alınmıştır.

9. ÖNERİLER

Antosiyanin türü bileşiklerin sentezi için geliştirilen yeni yöntemle daha farklı antosiyanin bileşikleri sentezlenerek bu bileşiklerin boyar madde ve indikatör özellikleri incelenebilir.

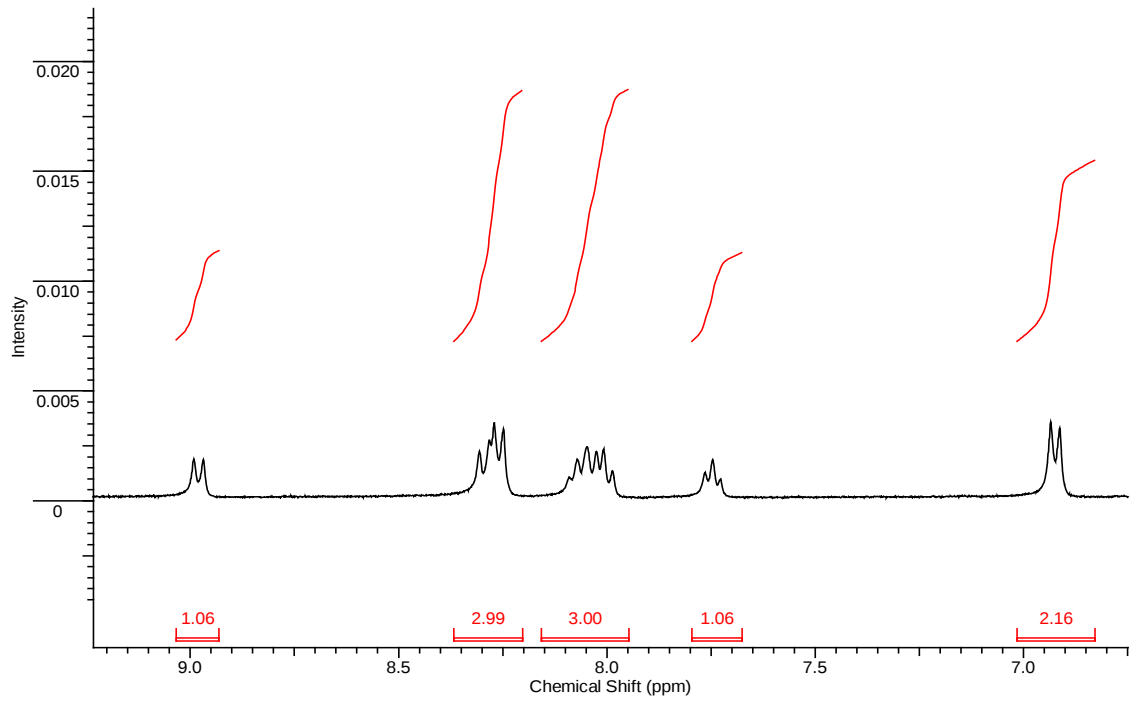
ANT Bromür bileşiği indikatör olarak titrasyon çalışmalarında kullanılabilir. Bunun yanında üretilen pH kağıdı, ticari olarak satılan turnusol kağıtlarına alternatif olarak üretilmiş olup asit-baz belirteci olarak kullanılabilir.

Voltametik ölçümlerdeki piklerden ötürü bileşiğin elektroaktif olduğu düşünüldü. Bu yüzden elektrokimyasal çalışmalarda kullanılabilirliği araştırılabilir. Potansiyometrik titrasyon yöntemi ile ANT bromür bileşiği için dönüm noktası tayini yapılabilir.

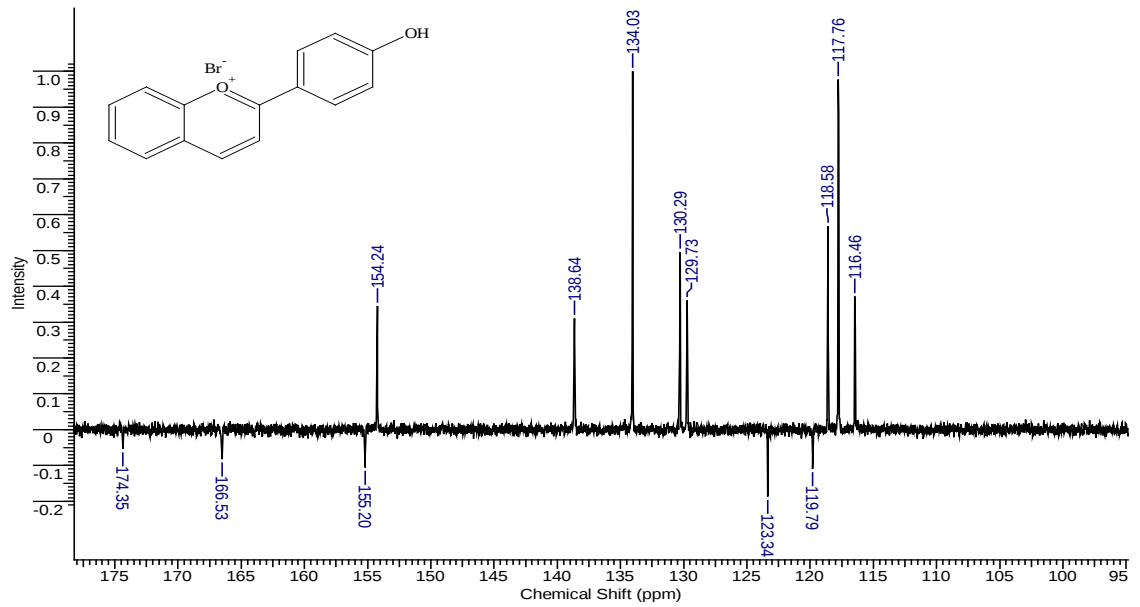
Antioksidan ve antimikrobiyal sonuçlarına göre değerlendirilen ANT bileşiğinin toksikolojik etkileri incelenip olumlu sonuç alınması durumunda gıda, kozmetik, tekstil ve ilaç gibi birçok alanda kullanılabilirliği araştırılabilir.

SOD ve DPPH aktivite çalışmalarının yanında sentezlenen ANT bileşiğinin DNA bağlanma etkileri ve nükleaz aktiviteleri incelenerek bu çalışma daha ileriye taşınabilir. Böylece biyokimya alanındaki çalışmalarda kullanılabilirliği sağlanabilir. Özellikle kanserojen etkisi olduğu bilinen ve elektroforez çalışmalarında kullanılan etidyum bromür maddesinin yerine kullanılabilirliği araştırılabilir.

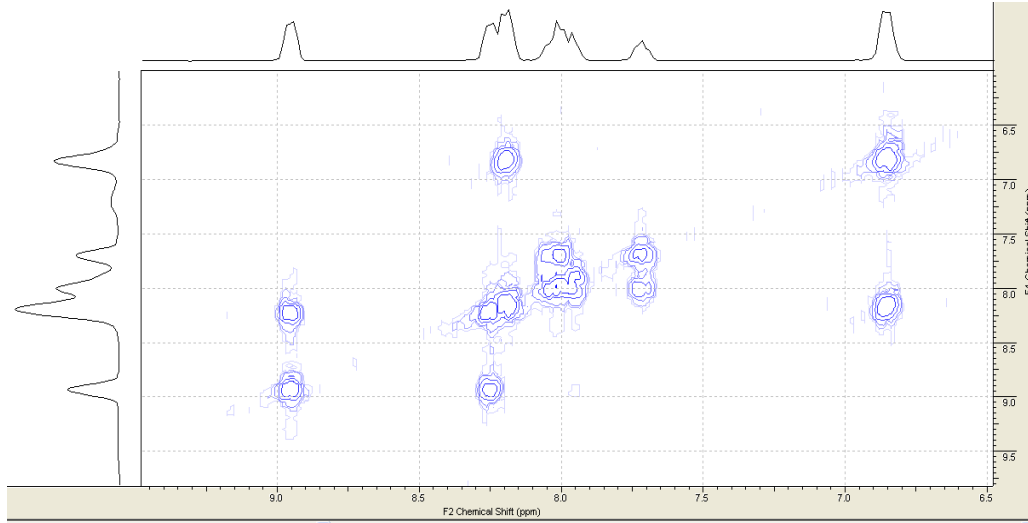
10. EKLER



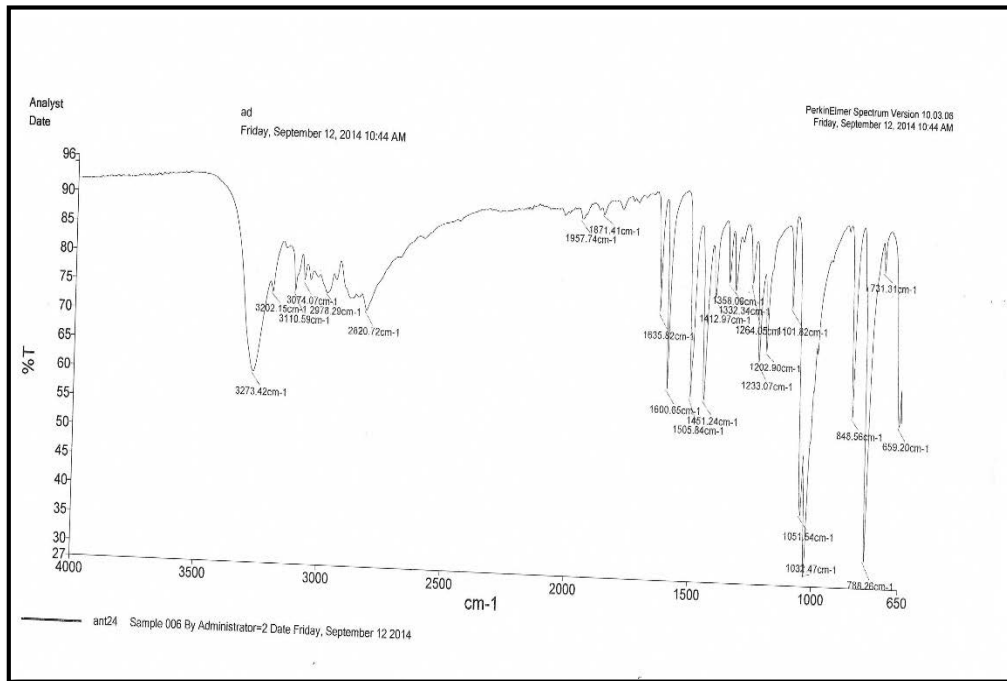
Ek 1. ANT Bromür bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu, 400 MHz, D_2O



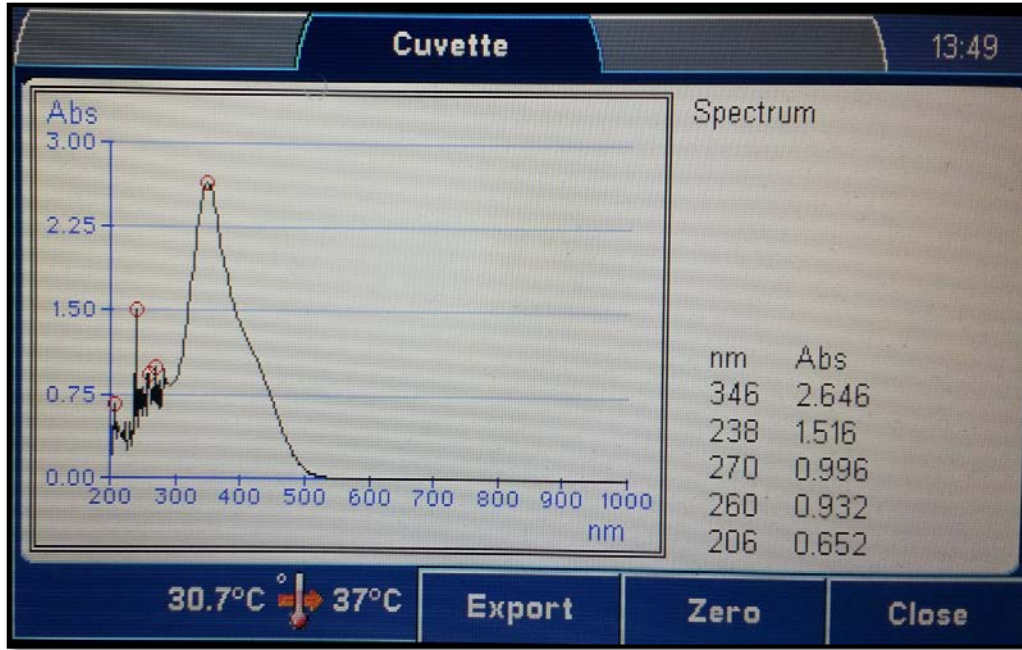
Ek 2. ANT Bromür bileşiğinin ^{13}C -APT spektrumu, 400 MHz, D_2O



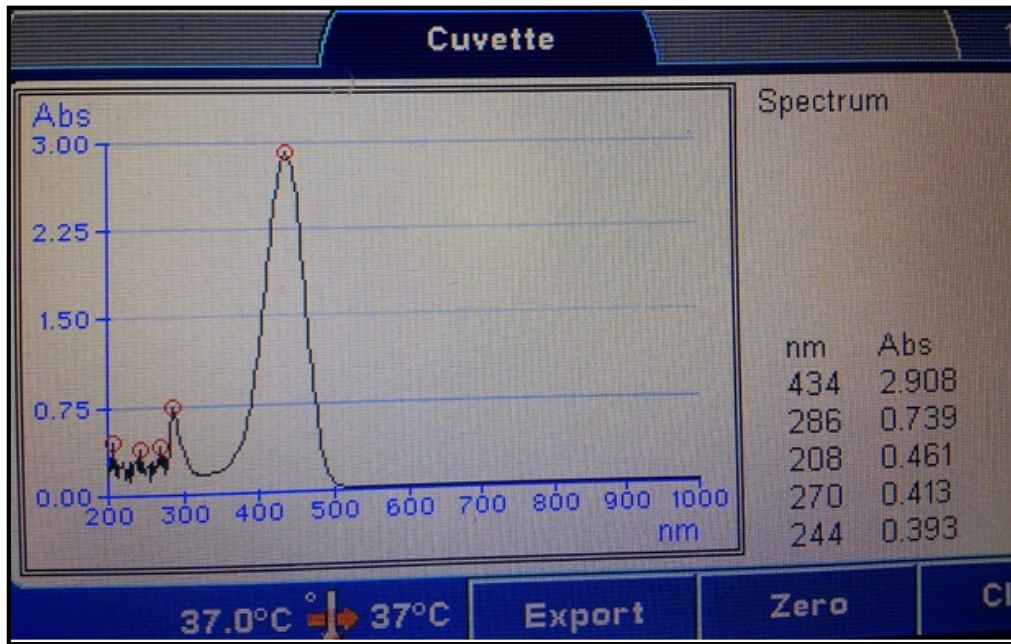
Ek 3. ANT Bromür bileşiğinin COSY spektrumu, 400 MHz, D₂O



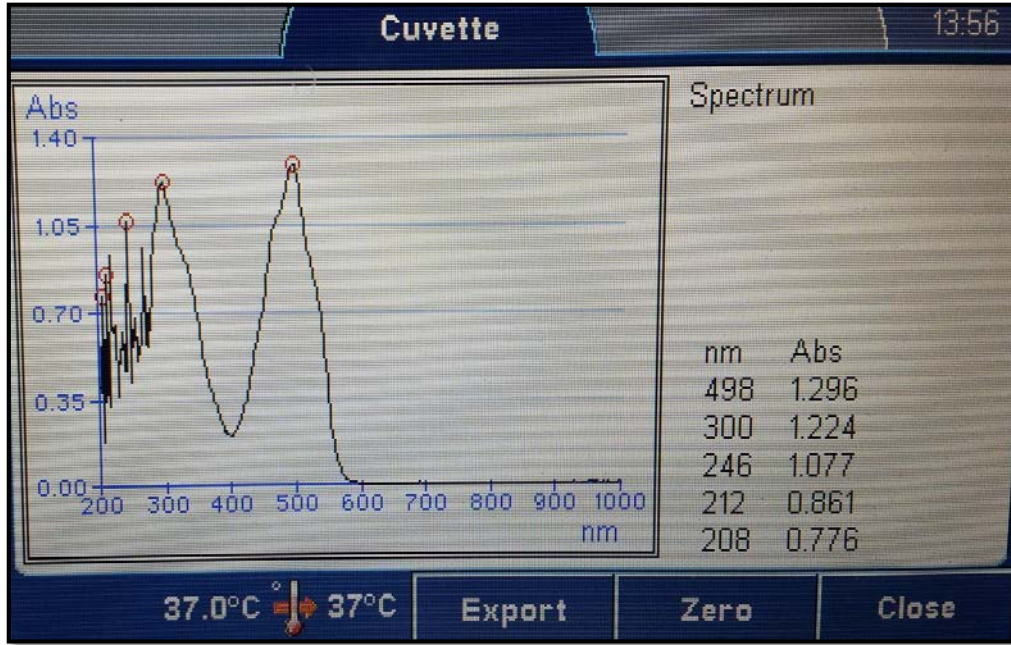
Ek 4. ANT Bromür bileşiğinin FT-IR spektrumu



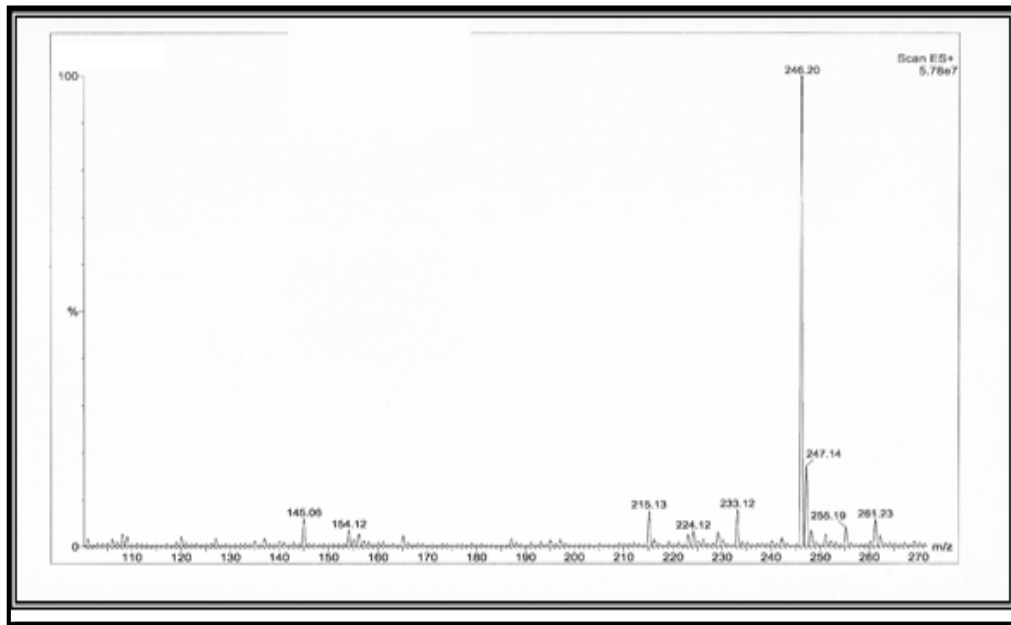
Ek 5. ANT Bromür bileşiğinin pH 3.46'ya kadar UV-Vis spektrumu



Ek 6. ANT Bromür bileşiğinin pH 3.46-8.43 aralığında UV-Vis spektrumu



Ek 7. ANT Bromür bileşiminin pH 8.43'ten yukarıdaki değerlerde UV-Vis spektrumu



Ek 8. ANT Bromür bileşiminin LC-MS/MS spektrumu

11. KAYNAKLAR

1. Turnusol. Bu siteden erişilebilir: <http://tr.wikipedia.org/wiki/Turnusol> [Erişim Tarihi:21.04.2015]
2. Ömer Çopur (2007). "Kara Lahana İndikatör Olarak Nasıl Kullanılır?" Hacettepe Üniversitesi, Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği Orta Öğretim Kimya Deneyleri Dersi, Ankara. Bu siteden erişilebilir: http://www.kimyaegitimi.org/sites/default/files/kimya_egitimi_ogrenci_deneyleri/indikator.pdf [Erişim Tarihi : 24.04.2015]
3. Kılınçaslan R (1999). Yeni bazı azo boyarmaddelerin metal komplekslerinin sentezi ve yapılarının aydınlatılması. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
4. Başer İ, İnanıcı Y (1990). Boyarmadde Kimyası. Marmara Üniversitesi Teknik Eğitim Fakültesi Yayın 482/2, İstanbul.
5. Özkan R (1992). Boyar Maddeler Ders Notları. Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
6. Çanakçı D (2010). Azo boyarmadde polimerlerinin ve metal komplekslerinin sentezi ve tekstil boyacılığında kullanılabilirliğinin incelenmesi. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
7. Çağatay Taşçı (2010). Boyarmaddeler, Bitirme Ödevi, Mayıs. Bu siteden erişilebilir: <http://files.tekstilteknik.webnode.com.tr/200000008-ca711cb6cf/boyarmmaddeler.pdf> [Erişim Tarihi:21.04.2015]
8. Özcan Y (1984). Tekstil Elyaf Boyama Tekniği, İstanbul Üniversitesi Yayın no:3176, Fatih Yayın Evi, İstanbul.
9. Karakuş M (1996). Bazı azo boyarmaddelerinin sentezi ve yapılarının aydınlatılması. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
10. Eroğlu H, Usta M (2004). Cilt 1: Kağıt ve Üretim teknolojisi.
11. Casey J P. Selüloz ve Kağıt Kimyası ve Kimyasal Teknoloji, Cilt 2: Kağıt Yapımı, Dönüştürülmesi, 2. Baskı. Interscience Publishers, Inc, New York. Çeviren: Türkiye Selüloz ve Kağıt Fab. İşletmesi Genel Müdürlüğü. Selüloz Basımevi, İzmit.
12. Pigmentler/Boyar maddeler. Bu siteden erişilebilir: <http://www.netzsch-grinding.com/tr/sektoerler-uygulamalar/pigmentler-boyar-maddeler.html> [Erişim Tarihi:21.04.2015]

13. Boya Nedir? Boyanın Tarihçesi ve Boya Hakkında Bilgi. Bu siteden erişilebilir: <https://www.nkfu.com/boya-nedir-boyanin-tarihcesi-ve-boya-hakkinda-bilgi/> [Erişim Tarihi: 21.04.2015]
14. Kabay N (2002). Yeni o,o'- dihidroksi azo boyarmaddelerin metal komplekslerinin sentezi ve yapılarının aydınlatılması. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
15. Çelik M E (2007). 1,3-Dimetilbarbitürik asit ile bazı heterosiklik ve karbosiklik aminlerden azo boyarmaddelerin sentezi ve spektroskopik özelliklerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
16. Hunger K (2003). Industrial Dyes. *Wiley-VCH*, Verlag, 1-6.
17. Boyama Özelliklerine Göre Boyarmaddeler. Bu siteden erişilebilir: <http://kimyaturk.net/index.php?PHPSESSID=bhrbe74ulb5n2s3sc7kjcipb57&topic=35074.0> [Erişim Tarihi:21.04.2015]
18. Mert H H, Doğan Y, Başlar S (1992). Doğal boya eldesinde kullanılan bazı bitkiler. *Ekoloji dergisi*, Sayı:5.
19. Duff D G, Sinclair R S, Stirling D (1977). Light - induced colour changes of natural dyes. *Studies in Conservation*, 22(4), 161-169.
20. Gulrajani M L, Srivastava R C, Goel M (2001). Colour gamut of natural dyes on cotton yarns. *Coloration Technology*, 117, 225-228.
21. Deveoğlu O, Karadağ R (2011). Genel Bir Bakış: Doğal Boyarmaddeler. *Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Dergisi*, 23(1), 21-32.
22. Tekstil Dershanesi- Boyar Maddeler. Bu siteden erişilebilir: <http://www.tekstildershanesi.com.tr/?sec=haber&id=1702&title=boyar-maddeler> [Erişim Tarihi: 21.04.2015]
23. Metal Kompleks Boyar Maddelerle Polyamidin Boyanması. Bu siteden erişilebilir. <http://tekstilsayfasi.blogspot.com.tr/2013/01/metal-kompleks-boyar-maddelerle.html> [Erişim Tarihi: 21.04.2015]
24. Tekstil Teknolojisi. Boyar Maddelerle Baskı 1, 542TGD588. T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, Ankara, 2012. Bu siteden erişilebilir: http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Boyar%20Maddelerle%20Bask%C4%B1%201.pdf [Erişim Tarihi: 21.04.2015]

25. Say R, Uysal Ü D, Şahin M, Diltemiz S E, Özcan A, Ersöz A, Özcan A A, Şahin Y (2009). Anadolu Üniversitesi yayını no: 1945, Açıköğretim Fakültesi yayını no: 1026. Analitik Kimya. Bu siteden erişilebilir: <http://ue.anadolu.edu.tr/eKitap/KIM108U.pdf> [Erişim Tarihi: 27.04.2015]
26. Asitler ve Bazlar Ünite 1. Bu siteden erişilebilir: yegitek.meb.gov.tr/aok/Aok_Kitaplar/AolKitaplar/Kimya_6/1.pdf [Erişim Tarihi: 21.04.2015]
27. Petrucci, Harwood, Herring. Genel Kimya İlkeler ve Modern Uygulamalar 2. Çeviri editörleri: Uyar T, Aksoy S. Sekizinci Baskıdan Çeviri, Palme Yayıncılık.
28. Kağıt pH metre ile pH ölçümü. Bu siteden erişilebilir: <http://www.evdeteknik.com/phmetre.html> [Erişim Tarihi: 21.04.2015]
29. Kantar Ö (2010). Antosiyaninlerin sentezi. Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
30. Ergüzel E T (2006). Quercetin (3,3',4',5,7- pentahidroksiflavon)'in bakır (II) ve çinko (II) komplekslerin kararlılık sabitlerinin tayini. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul. Kimyasal. net, Yüksek lisans tezleri serisi 1. Bu siteden erişilebilir: <http://www.kimyasanal.com/tezler/yukseklisans001.pdf> [Erişim Tarihi: 21.04.2015]
31. Pikulski M, Brodbelt J S (2003). Differentiation of flavonoid glycoside isomers by using metal complexation and electrospray ionization mass spectrometry. Department of Chemistry and Biochemistry; Austin, Texas, USA.
32. Cook N C, Saman S (1996). Flavonoids - Chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. J. Nutr. Biochem. 7: 66-76.
33. Karadağ R, Dölen E (1997). Tr. J. Of Chemistry, 21, 126.
34. Fenolik bileşikler. Bu siteden erişilebilir: http://www.food.hacettepe.edu.tr/turkish/ouyeleri/gmu428/bilesenler_2_fenolikler.pdf [Erişim Tarihi: 21.04.2015]
35. Gould K, Davies K, Winefield C (2008). Anthocyanins Biosynthesis, Functions and Applications. Springer, New York.

36. Antosiyaninler. Bu siteden erişilebilir: http://www.ammaddeler.com/index.php?option=com_content&view=article&id=103&Itemid=141 [Erişim Tarihi: 21.04.2015]
37. Ekici L (2011). Üzüm kabuğu, siyah havuç ve kırmızı lahanadan ekstrakte edilen antosiyanin bazlı renk maddelerinin biyolojik özelliklerinin belirlenmesi ve bazı gıda maddelerinde renklendirici olarak kullanımı. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
38. Longo L, Vasapollo G (2006). Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries. Food Chemistry, 94, 226-231.
39. Castaneda-Ovando A, Pacheco-Hernandez Ma de L, Paez-Hernandez Ma E, Rodriguez J A, Galan-Vidal C A (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. Food Chemistry, 113: 859-871.
40. Mazza G, Kay C D, Cottrell T, Holub B J (2002). Absorption of anthocyanins from blueberries and serum antioxidant status in human. Subjects J Agric Food Chem. 50: 7731-7737.
41. Antosiyaninler. Bu siteden erişilebilir: <http://www.kimyaevi.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFF7EE1F1486EE5030EBFA78F5AB8E93754> [Erişim tarihi: 21.04.2015]
42. Antosiyanin. Bu siteden erişilebilir: <http://www.chrhansen.com.tr/ueruenler/reklendiriciler/antosiyanin.html> [Erişim Tarihi: 21.04.2015]
43. Antosiyaninler ve antosiyanidinler. Bu siteden erişilebilir: <http://www.food-info.net/tr/colour/anthocyanin.htm> [Erişim Tarihi: 21.04.2015]
44. Kong J M, Chia L S, Goh N K, Chia T F, Brouillard R (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. Phytochemistry, 64: 923-933.
45. Ovando A C, Hernazed L P, Hermanzed E P, Redrugez J A, Vidal C A G (2009). Chemical studies of anthocyanins. A review Food Chemistry. 113: 859-871.
46. Antosiyanin nedir ve faydaları nelerdir? Bu siteden erişilebilir: <http://www.beslenmedestegi.com/dogal-urun/antosiyanin-nedir> [Erişim Tarihi: 21.04.2015]
47. Kowalczyk E, Krzesinski P Kura, M Szmigiel, B Blasczyk, J (2003). Anthocyanins in medicine, Pohsh Journal of Pharmacology, 55: 699,702.

48. Fernando J M R C, Senadeera B K R (2008). Natural anthocyanin as photosensitizer of dye-sensitized Solar devices Current Science.95 (5) 663-666.
49. Pazmino-Duran E A, Giusti M M, Wrosted R E, Gloria B A (2001). Anthocyanins from banana bracts (*Musa x paradisiaca*) as potential food colorants. Food Chemistry, 73: 327-332.
50. Kırca A (2004). Siyah havuç antosiyaninlerinin bazı meyve ürünlerinde ısıl stabilitesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
51. Mazza G, Miniati E (1993). Anthocyanins in fruits, vegetables and grains. CRC Press Inc. p: 362, Boca Raton, Florida.
52. Mazza G, Brouillard R (1987). Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. Food Chem. 25: 207-225.
53. Murkovic M, Mülleder U, Adam U, Ptanahouser W (2001). Detection of anthocyanins from elderberry juice in human urine. Jsci Food Agric, 8: 934-937
54. Mazza G, Kay C D, Cottrell T, Holub B J (2002)ç Absorption of anthocyanins from blueberries and Serum antioxidant status in human Subjects J Agric Food Chem. 50: 7731-7737
55. Satue-Garcia M T, Heinonen M, Frankel E N (1997), Anthocyanins as antioxidants on human low- density lipoprotein and lecithin liposome system, J Agric Food Chem. 45: 3362-3367.
56. Zheng W, Wong S Y (2003). Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries cranberries, chokeberries and lingonberries, J Agric Food Chem. 51: 502-509.
57. Bilaloğlu G V, Harmandar M (1997). Flavonoidler. Aktif Yayınevi, İstanbul.
58. Markham K R (1982). Techniques of Flavonoid Identification. Academic Press, London.
59. Tsuda T, Ohshima K, Kawakishi S, Osawa T (1994). Antioxidative pigments isolated from the seeds of phaseolus vulgaris L. J. Agric. Food Chem. 42: 248- 251.
60. Wang H, Cao G, Prior R L (1997). Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. J. Agric. Food Chem. 45: 304-309.
61. Kalt W, McDonald J E, Donner H (2000). Anthocyanins, phenolics and antioxidant capacity of processed lowbush blueberry products. J Food Sci. 65: 390-393.

62. Proteggente A R, Pannala A S, Paganga G, Buren L V, Wagner E, Wiseman S, Van de Put F, Dacombe C, Rice-Evans C (2002). The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free Radicals Res.* 36: 217-233.
63. Moncada M C, De Mesquita M F, Dos Santos M M C (2009). Electrochemical oxidation of the synthetic anthocyanin analogue 4-methyl-7,8-dihydroxyflavylium salt. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 636: 60-67.
64. Mathley J, Buslig B (1998). *Flavonoids in the Living System*. Plenum Press, New York.
65. Smith K (1992). *Solid Supports and Catalysts in Organic Synthesis*. Ellis Horwood and PTR Prentice Hall, New York.
66. Sullivan J (1998). Anthocyanin. *Science*, 1: 1–3.
67. Öztürk L, Tetiktabanlar İ (2011). Tuz stresinin bezelyede (*Pisum Sativum* L.) fenolik bileşikler üzerine etkisi. Proje No: 2010/25, Sonuç Raporu. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (Kasım 2011).
68. Holton A T, Cornish C E (1995). Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. *The Plant Cell*, 7: 1071–1083.
69. Castaneda-Ovando A, Pacheco-Hernandez M D L, Paez-Hernandez M E, Rodriguez A J, Galan-Vidal A C (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113: 859–871.
70. MacDougall D B (2002). *Colour in food Improving quality*. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, England, 179–221.
71. Gökmeşe F (2004). Bazı naftalidin ve salisilalidinlerin çeşitli voltametrik tekniklerle elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
72. Yıldız A, Genç Ö (1993). *Enstrümental Analiz*. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 1: 352.
73. Skoog D A, West D, Holler J (1996). *Analitik Kimya*. Bilim Yayıncılık, Ankara.
74. Bozoğlu C (2013). *Electrochromic devices based on sandwich metallophthalocyanines*. Master Thesis, Marmara University, Department of Chemical Engineering, İstanbul.

75. Baba B (2007). Biga Yarımadası (Çanakkale) sıcak su kaynaklarındaki arsenik (As)'in voltametri ve indüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi (Icp-MS) teknikleri ile kantitatif tayini. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
76. Bıyıklıoğlu Z (2009). Makrosiklik grup ihtiva eden yeni çözünür ftalosyaninlerin sentezi, karakterizasyonu ve elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesi. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
77. Asıladağ M (2006). Laktik asitin fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
78. Korsacılar D (2012). Metalik implant malzeme yüzeylerinin elektropolimerizasyon yöntemi ile sentetik hidrojel polimerle kaplanarak biyouyumluluğun artırılması. Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
79. Gündüz E (2007). Hetero çok çekirdekli komplekslerden elektrokimyasal yöntemler yardımıyla hazırlanan malzemelerin incelenmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
80. Demir F (2013). Electrochemical and spectroelectrochemical characterization of phthalocyanines and determination of their electrochemical application fields. Master Thesis, Marmara University Department of Chemical Engineering, İstanbul.
81. Özkaya A R (1994). Elektrokimyasal Analiz Yöntemleri, Marmara Üniversitesi, İstanbul.
82. Güner E T (2007). Yeni tip çözünür ftalosyanin sentezi, karakterizasyonu ve elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
83. Koca A (2002). Bazı porfirazin komplekslerinin voltametrik incelenmesi. Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
84. Koç İ (2012). Değişik metal merkezli ftalosyanin komplekslerinin redoks davranışlarının ve oksijen indirgenmesindeki katalitik aktivitelerinin elektroanalitik yöntemlerle incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
85. Fini A, Breccia A (1999). Chemistry by microwaves, Pure and Applied Chemistry, 4: 573-579.

86. Kahrıman N (2011). Mikrodalga yöntemi ile diaza-flavon/flavanon bileşiklerinin sentezi, *n*-alkil türevleri ve biyolojik aktiviteleri. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
87. Collins M Z (2004). Drug Discovery at the Speed of Light. CEM Presedent/CEO.
88. Yücel M (2012). Mikrodalga yöntemi ile 3'-aza-flavon/flavanon bileşiklerinin sentezi, *n*-alkil türevleri, katalitik hidrojenasyon reaksiyonları ve biyolojik aktiviteleri. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
89. Taylor M, Atri B, Minhas S (2005). Developments in Microwave Chemistry, Evalueserve, England.
90. Favretto L (2003). Fundamentals of Microwave Organic Synthesis, Milestone Organic Chemistry Division, Italy.
91. Gedye R, Smith F, Westaway K, Ali H, Baldisera L (1986) The use of microwave ovens for rapid organic synthesis, Tetrahedron Letters, 27: 279-282.
92. Lidström P, Tierney J, Wathey B, Westman J (2001). Microwave assisted organic synthesis, A rewiew, Tetrahedron, 57: 9225-9283.
93. Perrux L, Loupy A (2001). A tentative realization of microwave effects in organic synthesis according to the reaction medium and mechanistic considerations, A review, Tetrahedron, 57: 9199-9223.
94. Ferguson D (2000). The basic of microwave heating for organic synthesis, R&D Magazine, 42 (10): 689-700.
95. Varma S R (2002). Clay and clay-supported reagents in organic synthesis, Tetrahedron, 58 (7): 1235-1255.
96. De la Hoz A, Díaz-Ortiz A, Moreno A, Langa F (2000). Cycloadditions under microwave Irradiation Conditions: Methods and Applications, European Journal of Organic Chemistry, 3659-3673.
97. Varma S R (2006) Greener organic synthesis under non-traditional conditions, Journal of Chemistry, 45B 2305-2312.
98. Varma R S (2001). Solvent-Free accelerated organic synthesis using microwaves, pure and applied chemistry, 73: 193-198.

99. Kappe C O (2002). High-speed combinatorial synthesis utilizing microwave irradiation, current opinion in chemical biology, 6: 314–320.
100. Fessenden R J, Fessenden J S, Logue M W (2001). Organik Kimya, Editör: Uyar T, 6. Baskı, Güneş Kitabevi, Ankara.
101. Gündüz T (1999). İnstrümental Analiz, Gazi Kitabevi, Ankara.
102. Field L D, Sternhell S, Kalman J R (2002). Organic Structures From Spectra, Third Edition, John Wiley & Sons Ltd., England.
103. Atkins R, Carey F (1999). Organik Kimya Kısa ve Öz, Editör: Okay G, Yıldırım Y, Bilim Kitabevi, Ankara.
104. Balcı M (2000). Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi, Birinci Baskı, METU Press, Ankara.
105. Hart H, Craine L E, Hart D J (2011). Organik Kimya, Editör: Uyar T, İnami R, Onikinci Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara.
106. Solomons G, Fryhle C (2002). Organik Kimya, Editör: Okay G, Yıldırım Y, 7. Baskı, Literatür Yayıncılık, İstanbul.
107. Albay C (2011). Metoksi azakalkonlar, *n*-alkil ve dimerleşme türevlerinin sentezi ve biyolojik aktiviteleri. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
108. Üçüncü O (2008). Nitro-substitue azakalkonların *n*-dekilme ve dimerleşme reaksiyonları ile antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin incelenmesi. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
109. Akyüz E (2007). *Polygonum bistorta* ssp. *carneum* bitki ekstraktlarının kromatografik yöntemlerle kimyasal bileşiminin belirlenmesi ve antimikrobiyal aktiviteleri. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
110. TAPPI Standards Test Book (2002).
111. Ömeroğlu İ (2014). Periferik tetra sübstitüe metallsiz ve metalli ftalosiyeninlerin sentezi, karakterizasyonu ve elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
112. Beauchamp C, Fridovich I (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry, 44: 276-287.

113. Blois M S (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 29: 1199-1200.
114. Kamatchi T S , Chitrapriya N, Kim S K, Fronczek F R, Natarajan K (2013). Influence of carboxylic acid functionalities in ruthenium (II) polypyridyl complexes on DNA binding, cytotoxicity and antioxidant activity: Synthesis, structure and in vitro anticancer activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 59: 253-264.
115. Özer H, Sökmen M, Güllüce M, Adıgüzel A, Şahin F, Sökmen A, Kılıç H, Barış Ö (2007). Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of *Hippomarathrum microcarpum* (Bieb.) from Turkey. *J. Agric.Food Chem.* , 55: 937-942.
116. Amelia A, Almeida P, Farah A, Silva D A M , Nunan E A, Gloria B A (2006). Antibacterial activity of coffee extracts and selected coffee chemical compounds against Enterobacteria. *J. Agric.Food Chem.* , 54: 8738-8743.
117. Murray P R, Baron E J, Pfaller M A, Tenover F C, Tenover Y C (1995). *Manual of clinical microbiology* (7th ed.). Washington, DC: ASM (pp. 1773).
118. Process for manufacturing litmus dyestuffs. Patented Mar. 14, 1944.

12. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı : Şahinbaş, Zeynep
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 11.04.1990/Trabzon
Medeni hali : Bekar
E-posta : sahinbas61@gmail.com
Yazışma adresi : 1 Nolu Erdoğan Mah. Polis Orhan Çolak sokak No:2 Birlik Apartman Kat:9 Daire:35 Ortahisar/Trabzon

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı	2015
Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü	2012
Lise	Trabzon Lisesi (Yabancı Dil Ağırlıklı)	2008

YABANCI DİL

İngilizce

ÖDÜLLER/TEŞVİKLER/BURSLAR

1. TÜBİTAK(113R010)- Azakalkonların Asimetrik Epoksidasyon Reaksiyonları ve Ürünleri, Hidrazin ile Pirazolin Türevi Bileşiklerin Elde Reaksiyonları ve Antosiyanin Türü Bileşiklerin Mikrodalga Yöntemi ile Sentezi ve Biyolojik Aktiviteleri- Bursiyer